Copyrighted Material

# ULTIMATE COMPUTING

## Biomolecular Consciousness and NanoTechnology

Stuart R. Hameroff

North-Holland

Copyrighted Material

# COMPUTERUL FINAL

## Conștiința biomoleculară și nanotehnologia

Activitățile la scara miliardului în ansamblurile biomoleculare ar putea defini viaţa însăşi şi ar putea oferi o frontieră pentru evoluția tehnologiei.

**Stuart R. Hameroff**

Departamentul de Anesteziologie Colegiul de Medicină Universitatea din Arizona Tucson, Arizona, S.U.A.

© Elsevier Science Publishers B.V., 1987

# Cuprins

0. Preludiu
1 Către calculul suprem
    1.1. Minte/Tehnologie: Fuziune la scară nanometrică
    1.2 Evoluţia tehnologiei
    1.3 Inteligenţa colectivă
        1.3.1. Paralelism
        1.3.2. Connectionism
        1.3.3. Cooperativitate şi coerenţă
    1.4. Calcul molecular
    1.5. Reprezentarea dinamică a modelelor
        1.5.1. Sisteme de difuzie a reacţiilor
        1.5.2. Holograme
        1.5.3. Macroni
        1.5.4. Automate celulare
2. Creier/Minte/Computer
    2.1. Metafore ale conştiinţei
    2.2. Perspective istorice - Conştiinţa ca.....
        2.2.1. Conştiinţa ca fizică a undelor/particulelor
        2.2.2. Conştiinţa ca proprietate a protoplasmei
        2.2.3. Conştiinţa ca învăţare
        2.2.4. Conştiinţa ca o impunere metafizică
        2.2.5. Teoria spectatorului neajutorat
        2.2.6. Evoluţia emergentă
        2.2.7. Behaviorismul
        2.2.8. Conştiinţa ca activitate dinamică a sistemului de activare reticulară a creierului
        2.2.9. Conecţionismul reţelei neuronale
        2.2.10. Holografia
        2.2.11. Bazele citoscheletice ale conştiinţei
3. Originea şi evoluţia vieţii
    3.1. Supă vs noroi, pui versus ou
    3.2. De la procariot la eucariot - saltul simbiotic
    3.3. Centriolii - deturnătorii evoluţiei
    3.4. Evoluţia biotehnologică - următoarea simbioză
4. De la creier la citoschelet
    4.1. Evoluţia sistemului nervos
    4.2. Organizarea sistemului nervos
        4.2.1. Arhitectura
        4.2.2. Semnalarea neuronală
        4.2.3. Sinapse interneuronale
    4.3. Reprezentarea informaţiilor
        4.3.1. Centrele reflexe de integrare-Sherrington
        4.3.2. Logica impulsurilor
        4.3.3. Conexionismul şi reţelele neuronale
        4.3.4. Distribuţie
        4.3.5. Mecanismele sinaptice ale învăţării şi memoriei
        4.3.6. Transport axoplasmatic
        4.3.7. Paralelismul, cooperativitatea colectivă şi granulaţia engramelor
    4.4. Către conştiinţa moleculară

5. Cytoskeleton/Cytocomputer
    5.1. Natura citoplasmei
    5.2. Microtubuli
        5.2.1. Structura şi funcţia microtubulilor
        5.2.2. Asamblarea microtubulilor şi generarea formei
        5.2.3. Centrele de organizare a microtubulilor (MTOC) şi cent dolurile.
        5.2.4. Proteine asociate microtubulilor (MAPs)
    5.3. Filamente intermediare
    5.4. Substanţa de bază citoplasmatică
        5.4.1. Reţeaua microtrabeculară (MTL)
        5.4.2. Citomatricea
        5.4.3. Starea solidă citoplasmatică
    5.5. Motilitatea citoscheletică
        5.5.1. Sondarea citoplasmatică
        5.5.2. Braţe laterale de îndoire
        5.5.3. Mişcarea ciliară şi colectivă
        5.5.4. Geluri geodezice de tensiongrity
    5.6. Citoscheletul şi dezvoltarea
    5.7. Citoscheletul şi medicina
    5.8. Inteligenţa în citoschelet
6. Dinamica conformaţională a proteinelor
    6.1. Structura proteinelor
    6.2. Conformaţia proteinelor
    6.3. Proteinele şi energia
    6.4. Cooperativitatea proteinelor - viziune istorică
    6.5. Apa vie şi interacţiunile hidrofobe
    6.6. Efecte elctrice, piezoelectrice şi piroelctrice
    6.7. Solitoni/Davydov
    6.8. Excitaţii coerente /Frohlich
    6.9. Bosoni fără masă, autofocalizare citoscheletală
7. Anestezia: O altă latură a conştiinţei
    7.1. Nivelurile de anestezie/conştienţă
    7.2. Memoria.
    7.3. Mecanisme ale anesteziei
8. Modele de calcul citoscheletal
    8.1. Energie şi informaţie în microtubuli
    8.2. Procesarea informaţiei în citoscheletă
        8.2.1. Transducţia senzorială MT/Atema
        8.2.2. Transductoare mecano-ionice MT/Moran şi Varela
        8.2.3. Calculul citomolecular/Conrad şi Liberman
        8.2.4. Procesarea semnalelor MT/DeBrabander
        8.2.5. Procesoare de şiruri citoscheletice/Barnett
        8.2.6. „Gradări” de microtubuli/Roth, Pihlaja, Shigenaka
        8.2.7. Centrioli giroscopici/Bornens
        8.2.8. Semnalizarea centriolei-MT/Albrecht-Buehler
        8.2.9. Tensegritate dinamică/Heidemann şi Jarosch
        8.2.10. Sondare MT dinamică/Kirschner şi Mitchison
        8.2.11. Simetria şuruburilor de împachetare a sferelor/Koruga
        8.2.12. Autofocalizarea citoscheletică/Del Giudice
        8.2.13. Automate MT, holografie/Hameroff, Watt, Smith
    8.3. Conexiunea citoscheletală
9. Viruşi/forme de viaţă ambigue

9.1. Care este esenţa materiei vii
9.2. Comportamentul (greşit) al virusului
9.3. Structura virusului şi oscilaţiile colective
9.4. Natura şi originea viruşilor
9.5. Virusuri domestice
10. NanoTechnologia
10.1. Primii nanotehnologi
10.2. Microscoape de scanare cu efect tunel (STMs)
10.3. Maşini STM/Feynman (FMs)
10.4. Concurs de micro/nano STM
10.5. STM/Fms şi calcul molecular
10.6. STM/FMs-uri şi aplicaţii biomedicale
10.7. Replicarea automatelor
11. Viitorul conştiinţei
12. Bibliografie
12.1. Referinţe STM
12.2. Microscoape optice cu scanare în câmp apropiat
12.3. Alte instrumente de replicare STM
12.4. Referinţe privind sistemele de replicare
12.5. Referinţe privind calculul colectiv
12.6. Referinţe privind calculul cuantic

# 0. Preludiu

Ce este această carte şi de ce a fost scrisă de un anesteziolog? Această carte este o viziune asupra co-evoluției conştiinței şi a tehnicii - trecut, prezent şi viitor.

Această carte a fost scrisă de un anestezist datorită confluenței a două fascinații. Prima este natura conştiinței, pe care anesteziologii o şterg şi o restabilesc în mod obişnuit la pacienții lor. A doua este o urmă de cincisprezece ani de noțiuni care nu voiau să dispară. În 1972, pe când eram student în anul al treilea la medicină, am petrecut un stagiu de cercetare de vară într-un laborator de cancer. Dintr-un motiv oarecare, am devenit fascinat şi fixat de o anumită întrebare. Atunci când celulele se divizează, cromozomii sunt separați, iar arhitectura celulelor fiice este stabilită prin fire subțiri numite fusuri mitotice („microtubuli") şi organite cilindrice numite centrioli. Cumva, centriolii şi fusurile „ştiau" când să se mişte, unde să meargă şi ce să facă. Mecanismul straniu de ghidare şi orientare al acestor structuri biomoleculare minuscule părea să necesite un fel de inteligență motorizată. Cam în acelaşi timp, tehnicile de microscopie electronică dezvăluiau că interiorul tuturor celulelor vii este plin de şuvițe, dintre care unele erau identice cu fusurile mitotice. Interconectate în rețele paralele dinamice, se credea că aceste structuri au un rol structural pur de susținere sau mecanic şi au fost denumite colectiv „citoschelet".

Însă mai mulți factori au sugerat că citoscheletul era mai mult decât „oasele" structurale ale celulei: acesta manipula activități dinamice, orchestrând procese complexe şi extrem de eficiente, precum creşterea celulară, mitoza şi transportul. Un alt factor a fost lipsa oricărui alt candidat pentru organizarea dinamică „în timp real" în cadrul celulelor. Planurile pe termen lung şi informațiile genetice se aflau în mod clar în ADN şi ARN, iar membranele îndeplineau funcții dinamice la suprafața celulelor. Cu toate acestea, a rămas necunoscut un mecanism de execuție, organizare şi activitate *momentanee* în cadrul celulelor. Unde se afla sistemul nervos din interiorul celulei? Exista un controlor biologic? Această carte se bazează pe premisa că citoscheletul este sistemul nervos al celulei, controlerul/computerul biologic. În cazul creierului, acest lucru implică faptul că nivelurile de bază ale cunoaşterii se află în interiorul celulelor nervoase, că filamentele citoscheletice sunt rădăcinile conştiinței. Dimensiunile mici şi activitățile rapide de conformație ale proteinelor citoscheletice sunt dincolo de rezoluția tehnologiilor actuale, astfel încât dinamica lor potențială rămâne neexplorată, iar capacitatea de control a citoscheletelor rămâne netestată. În viitorul apropiat, tehnologiile vor putea funcționa la scară nanometrică (nano = $10^{-9}$; nanometru = o miliardime de metru, nanosecundă = o miliardime de secundă) şi sperăm că vor rezolva aceste întrebări. Dacă dinamica citoscheletală este într-adevăr textura procesării informațiilor intracelulare, aceleaşi „nanotehnologii" ar trebui să permită monitorizarea directă, decodarea şi interfațarea între dispozitivele de informații biologice şi tehnologice. Acest lucru, la rândul său, ar putea duce la aplicații biomedicale importante şi poate la o fuziune între minte şi maşină: ***Ultimate Computing*** *(Computerul final)*.

O analiză aprofundată a acestor idei implică o serie de discipline, toate având o legătură cel puțin tangențială cu anesteziologia. Acestea includ biochimia, ştiințele cognitive, informatica, ingineria, matematica, microbiologia, biologia moleculară, farmacologia, filosofia, fizica, fiziologia şi psihologia. Nefiind expert în niciunul dintre aceste domenii, dar fiind pasionat de toate, sper că adevărații experți în aceste domenii vor găsi eforturile mele cât mai interesante.

Pornind de la o perspectivă citoscheletală, această carte aruncă metafore către adevăr. Poate că una sau mai multe vor ajunge la țintă sau cel puțin se vor apropia de ea.

# 1. Către Computerul Suprem

## 1.1. Minte/tehnologie: Fuziune la scară nanometrică

Atât biologia, cât şi tehnologia evoluează către metode mai eficiente de procesare a informaţiilor. Cu un avans de un miliard de ani, biologia a dezvoltat conştiinţa umană; tehnologia pare să recupereze rapid decalajul.

Computerul Final este destinaţia comună pentru evoluţia sistemelor de procesare a informaţiilor atât în biologie, cât şi în tehnologie. În acest moment, este vorba de o extrapolare a unor traiectorii convergente, dar Computerul Suprem ar putea exista în curând la scară nanometrică. Nano = $10^{-9}$, un nanometru este o miliardime de metru, iar o nanosecundă este o miliardime de secundă. Subunităţile din ansamblurile proteice biologice (polimeri citoscheletici, organite, proteine membranare, învelişuri virale) sunt de dimensiuni nanometrice şi suferă oscilaţii conformaţionale pe scara de timp a nanosecundei. Excitaţiile la scară nanometrică, care pot fi coerente şi cuplate la deplasările de dipol intraproteice, pot genera „moduri colective" comunicative în cadrul ansamblurilor proteice şi pot oferi un substrat pentru prelucrarea informaţiilor biologice. Astfel, „scara nanometrică" (figura 1.1) poate fi locul în care a evoluat inteligenţa vie. Întâmplător, dispozitivele la scară nanometrică, inclusiv computerele moleculare, maşinile Feynman şi replicatoarele von Neumann, devin fezabile prin tehnologii precum microscopia cu tunel de scanare. Un mariaj la scară nanometrică între biomolecule şi dispozitive nanotehnologice, care să asigure comunicarea directă şi transferul de informaţii, ar putea avea beneficii profunde pentru biomedicină şi cultura noastră în general.

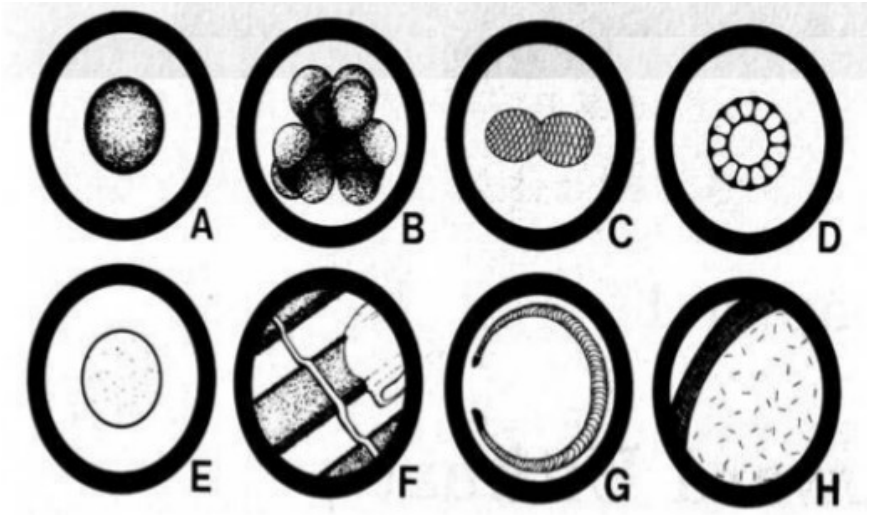


*Fig. 1.1: Dimensionarea lumii nano. Diametrul fiecărui cerc este dat în nanometri (nm). A) 0,30 nm - un atom de carbon, cu diametrul de 0,15 nm. B) 0,50 nm-alanina, un aminoacid cu 13 atomi, inclusiv 3 atomi de carbon, are un diametru de aproximativ 0,33 nm. C) 12 nm-o proteină dimer tubulină, subunitatea microtubulelor, are o lungime de 8 nm. Este compusă din 2 monomeri similari (alfa şi beta tubulină), fiecare format din aproximativ 440 de aminoacizi. Haşura transversală sugerează cantitatea aproximativă de spaţiu disponibil pentru fiecare aminoacid. D) 50 nm - un microtubul, un tub cu 13 feţe, cu un diametru exterior al secţiunii transversale de 25 nm. E) 1900 nm - un axon nervos mic cu diametrul de 1000 nm ar putea conţine 100 de microtubuli (ilustraţi) şi 1000 de filamente mai mici (nu sunt ilustrate). Microtubulele se asociază în aglomerări informale de 1-5 microtubule fiecare, reprezentate prin puncte. F) 40.000 nm - o celulă nervoasă crescută pe suprafaţa unui cip de computer Motorola 68000. Grosimea firului este de 15 000 nm lăţime. G) 170 000 nm - un nematod este un vierme mic cu mai puţin de 1000 de celule, dintre care 300 sunt neuroni. Nematodele au creier, dinţi, muşchi, intestin şi viaţă sexuală. Acesta are o lungime de aproximativ 450.000 nm. H) 5.000.000 nm - un sfert de unghie de deget uman cu 50 de nematode reprezentate la scară. De Paul Jablonka*.

Îmbinarea dintre conștiință și tehnologia informatică este un vis răspândit. Inteligența artificială bazată pe organizarea creierului/minții este un pas provizoriu în această direcție, la fel ca și utilizarea propusă a rețelelor de proteine autoasamblate ca circuite de comutare sau „biocipuri”. Eforturile japoneze pentru „calculatorul de a șasea generație” vizează „integrarea biologiei și tehnologiei” prin fuzionarea cercetării în domeniul inteligenței artificiale și a funcțiilor organismelor vii (Corcoran, 1987). Încercând să înțeleagă condițiile necesare pentru menținerea „homeostaziei” biologice, japonezii speră să se angajeze într-o simbioză între structurile biologice inteligente și dispozitivele tehnologice, și chiar să prezică un „creier artificial”! Un ingredient care lipsește pentru o astfel de fuziune minte/tehnologie este înțelegerea mecanismului conștiinței. Majoritatea modelelor de organizare a creierului consideră că celulele nervoase și conexiunile lor sunt unitățile fundamentale de procesare a informațiilor din creier. Cu toate acestea, în celulele nervoase au loc activități profund complexe și inteligente. Mai mult, organisme simple precum *amoeba* unicelulară și Paramecium îndeplinesc sarcini complexe fără a beneficia de creier sau sistem nervos. În această carte considerăm **citoscheletul** - rețelele de polimeri proteici care ocupă și organizează interiorul tuturor celulelor vii (figura 1.2) - ca un sistem de procesare a informațiilor foarte evoluat, care funcționează la scară nanometrică. Activitățile colective la scară nanometrică ale citoscheletului și ale structurilor înrudite pot explica organizarea biologică, prelucrarea informațiilor și conștiința și pot fi ținta viitoarei evoluții tehnologice.

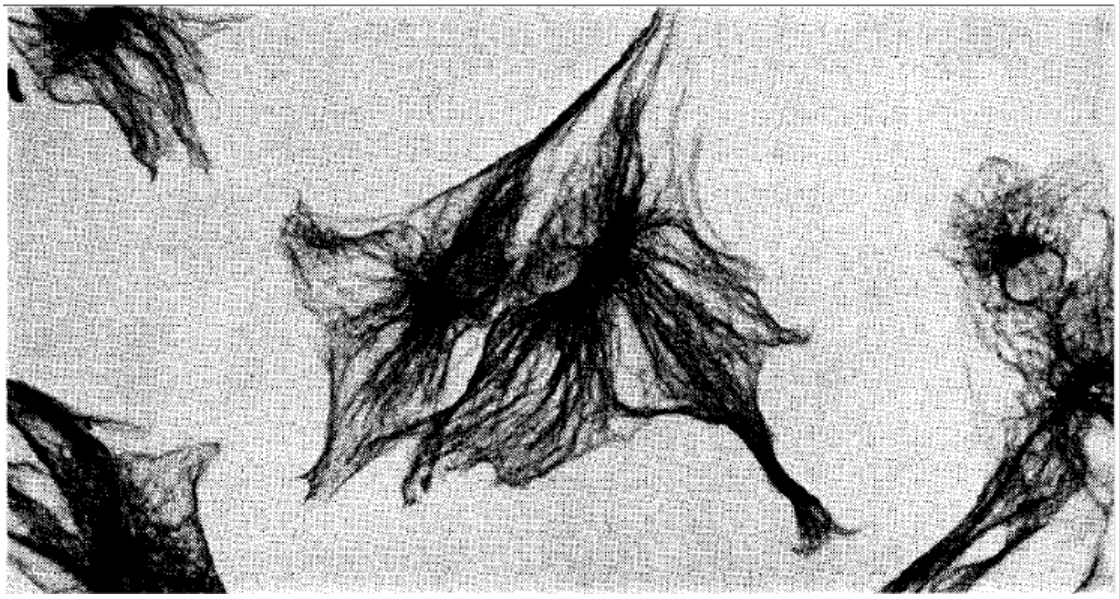

*Fig. 1.2: Citoscheletul în celulele care tocmai s-au divizat. Microtubulii intracelulari sunt vizualizați prin imunocolorare. Zonele sferice sunt nucleele celulare, adiacente cărora sunt centrele dense de organizare a microtubulilor (MTOC). Cu permisiunea lui DeBrabander, Geuens, DeMey și Joniav (1986), prin amabilitatea lui Marc DeBrabander*

## 1.2 Evoluția tehnologiei

Emularea tehnologică a vieții începând cu secolul al XIII-lea a fost analizată de autorul Claris Nelson (1985). Se spune că Albertus Magnus a creat un servitor mecanic din metal, lemn, sticlă, piele și ceară care putea deschide uși și saluta vizitatorii. Acesta a fost considerat o lucrare blasfematoare a diavolului de către elevul lui Magnus, Sfântul Toma de Aquino, care l-a distrus. Scriitorii de *science fiction* au prezis computerele și roboții cu mult înainte ca acestea să existe. În 1879, *The Ablest Man in the World* a lui Edward Page Mitchell prezenta un creier mecanic, iar în 1928, în *The Metal Giants* a lui Edmund Hamilton, un creier artificial s-a întors împotriva creatorilor săi.

Computerele descind din mașinile de calcul, dintre care cel mai vechi a fost abacul. În 1642, matematicianul și filosoful francez Pascal a realizat un calculator mecanic care folosea sistemul zecimal pentru adunare și scădere. În 1694, matematicianul/filosoful german Leibniz a creat un

„Stepped Reckoner”, care trebuia să înmulţească, să împartă şi să facă rădăcini pătrate. Acesta nu a funcţionat, dar a utilizat principii esenţiale mai târziu pentru calculatoarele moderne. Sarcinile erau împărţite într-un număr mare de paşi matematici simpli folosind numere binare şi erau efectuate secvenţial. Mai târziu, când computerele au început să funcţioneze cu electricitate, numerele binare zero şi unu au devenit reprezentate prin oprire şi pornire. La începutul anilor 1800, George Boole a dezvoltat „algebra booleană”, logica matematică prin care sunt concepute circuitele informatice. Charles Babbage şi Ada Lovelace - fiica cea mare a Lordului Byron - au proiectat un „motor analitic” folosind cartele perforate. Tehnologia lor contemporană nu putea construi maşina cu suficientă precizie, dar aceasta a fost construită şi a funcţionat în secolul al XX-lea.

Primul calculator electronic a fost aparent construit şi operat în 1939 de John Vincent Atanasoff, un fizician teoretician la Universitatea de Stat din Iowa (Mackintosh, 1987). La scurt timp după aceea, Alan Turing şi colegii săi din Bletchley, Anglia, au proiectat un calculator pentru a efectua toate calculele matematice posibile. Acesta se baza pe munca lui Turing care demonstra limitele logice ale calculabilităţii şi a fost utilizat pentru a descifra codul german "Enigma" în timpul celui de-al Doilea Război Mondial. Într-o prezentare magistrală a ideilor cheie dezvoltate anterior de alţi pionieri, John von Neumann a avansat în continuare designul computerelor prin separarea maşinii de problemele sale. Înainte de von Neumann, un calculator trebuia reconectat pentru fiecare sarcină nouă. Cu suficient timp, memorie şi software, computerele puteau rezolva problemele care puteau fi împărţite în secvenţe finite de paşi logici. Majoritatea computerelor actuale folosesc procesare "serială" bazată pe designul lui von Neumann. În anii 1940, Universitatea din Pennsylvania a dezvoltat primul calculator electronic, Integratorul şi Calculatorul Numeric Electronic sau "ENIAC". Cântărea 30 de tone, ocupa 3.000 de picioare cubice de spaţiu şi conţinea 18.000 de tuburi cu vid, dintre care unul ceda la fiecare şapte minute. Putea calcula probleme de fizică nucleară în două ore, ceea ce ar fi necesitat un an de muncă pentru 100 de ingineri. Astăzi, aceeaşi capacitate este disponibilă pe un singur cip. În 1950, Remington Rand a comercializat UNIVAC, care se ocupa de cuvinte şi numere stocate prin echivalentul lor binar. De atunci, aproximativ patru generaţii de computere au evoluat datorită creşterii cererii şi a progreselor în design, dimensiunea cipului, materiale şi alţi factori. Din aceleaşi motive, progresele ulterioare par inevitabile.

Von Neumann şi Turing sperau că computerele ar putea duplica capacitatea noastră de a gândi, astfel încât minţile noastre să poată fi amplificate la fel cum muşchii noştri au fost de maşinile industriale. Cu toate acestea, evoluţia ulterioară a computerelor care utilizează procesarea serială pare limitată. Computerele şi inteligenţa artificială evoluează acum către sisteme paralele bazate pe arhitectura creierului şi modele de reţele neuronale; un pas viitor poate fi inteligenţa la scară nanometrică, auto-organizată.

Von Neumann este unul dintre "părinţii computerului". În procesarea "serială" pe care a formalizat-o cu măiestrie, informaţia curge într-o singură dimensiune. În anii 1950 şi 1960, von Neumann (1966) şi Stanislav Ulam au dezvoltat matematica calculului în multiple dimensiuni. Ei au considerat spaţii informaţionale bidimensionale cu subunităţi discrete ("celule") ale căror stări puteau varia în funcţie de stările celulelor învecinate. Fiecare celulă şi relaţiile sale de vecinătate erau identice. Reguli relativ simple între vecini şi intervale de timp discrete ("generaţii") au condus la modele evolutive şi auto-organizare, care erau extrem de sensibile la condiţiile iniţiale. Ei au numit aceste sisteme "automate celulare". Von Neumann a descris un automat "calculator universal" care putea rezolva orice problemă dacă i se oferea suficientă arie şi timp. Astăzi, tehnologii computerelor iau în considerare avantajele profunde ale implementării automatelor la scară moleculară (Milch, 1986). Edward Fredkin de la Institutul de Tehnologie din Massachusetts a considerat automate multidimensionale şi discretitudinea timpului şi a materiei. El susţine că universul este un automat celular ale cărui "celule" sunt particule atomice şi subatomice (Wright, 1985). Universul este făcut din informaţie, raţionează Fredkin. Automatele celulare pot fi "calculatoare primordiale" generalizate, dintre care toate celelalte computere şi sisteme complexe sunt exemple particulare. Automatele celulare în stări conformaţionale ale subunităţilor citoscheletice ar putea procesa informaţii biologice şi ar putea fi substratul conştiinţei.

Tendința actuală în designul computerelor și inteligența artificială sau "AI" este conectivitatea paralelă, care emulează creierul. Multe tipuri de probleme pot fi rezolvate prin împărțirea lor în pași matematici seriali. Computerele electronice de astăzi procesează serial foarte rapid și pot rezolva probleme matematice complexe mult mai repede decât pot oamenii singuri. Cu toate acestea, funcțiile calitative pe care creierul le realizează în mod natural - recunoașterea modelelor sau emiterea de judecăți - sunt extrem de dificile pentru computere. Luați în considerare litera "a". O recunoaștem automat, în orice tip de literă, în toate, cu excepția celei mai proaste scrieri de mână. Pentru creierele noastre este simplu, rapid, evident chiar și dacă lipsește. Dacă vedem, „Sally «**red**» un ziar,", inserăm mental "a"-ul absent (read=citește). Omul de știință din domeniul computerelor/AI Jerome Feldman (1985) citează exemplul interpretării afirmației "John a aruncat o minge pentru caritate". Ambiguitățile inerente ale acestui tip de afirmație pot fi rezolvate într-un sistem foarte paralel în care multiple interpretări simultane sunt procesate și evaluate. Aruncarea unei *sfere* versus găzduirea unui *dans* pot fi rezolvate de calificativul "pentru caritate", care este mult mai consistent cu un dans decât cu o sferă. Creierele umane rezolvă în mod obișnuit conflicte între diferite impulsuri sau intrări, deși eșecul de a face acest lucru poate provoca probleme psihiatrice sau emoționale. Cel puțin conform *science fiction*-ului, computerele pot suferi tulburări similare. În 2001: *Space Odyssey* și continuarea sa *2010* de Arthur C. Clarke și Stanley Kubrick, computerul "Hal 9000" devine psihotic din cauza instrucțiunilor contradictorii și reacționează ucigând navigatorii spațiali, deoarece misiunea lor era prea importantă pentru a le fi încredințată. Creierul/mintea poate efectua funcții "cognitive", inclusiv rezolvarea conflictelor prin procese "subcognitive", cum ar fi recunoașterea modelelor, formularea de presupuneri și efectuarea de salturi imaginative. Efectul net este conștiința: un efect colectiv al proceselor mai simple.

## 1.3 Inteligența colectivă

Un fenomen colectiv este mai degrabă produsul, decât suma părților sale și a fost explicat de biofizicianul John Hopfield de la Cal Tech (1982), ale cărui modele de „rețele neuronale" sunt colective.

> Să presupunem că puneți două molecule într-o cutie, din când în când acestea se ciocnesc și acesta este un eveniment interesant. ... Dacă am mai pune zece sau chiar o mie de molecule în cutie, nu am obține decât mai multe coliziuni. Dar dacă punem un miliard de miliarde de molecule în cutie, apare un nou fenomen - undele sonore.

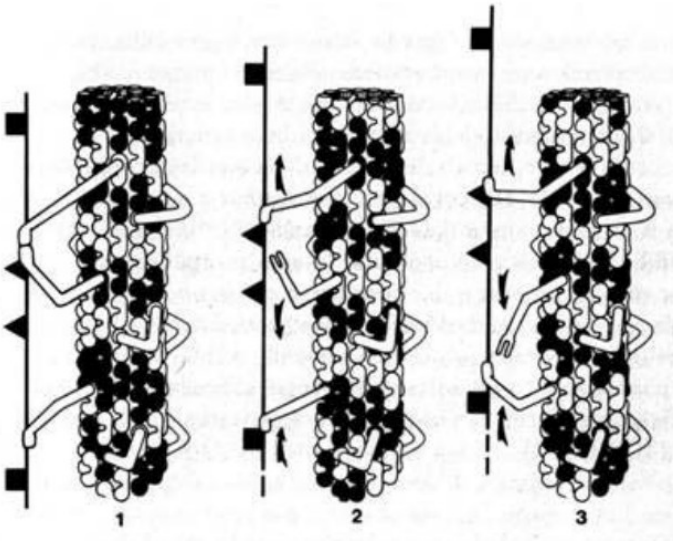


*Fig. 1.3: Transportul axoplasmatic are loc prin activități coordonate ale proteinelor contractile ("dynein ") atașate la microtubuli, care trec materialul în mod cooperativ într-o „brigadă de găleți". Mecanismul de orchestrare este necunoscut, dar prezentat aici ca o consecință a semnalizării prin unde „soliton" a stărilor conformaționale ale subunităților microtubulare. De Fred Anderson.*

Observarea a două, zece sau mii de astfel de molecule nu ar sugera Mozart sau Madonna care pot apărea într-o colecție de mai mult de un trilion de trilioane de molecule. Alte exemple de fenomene colective pot fi observate în stupii de albine, coloniile de furnici, echipele de fotbal, guverne și diferite tipuri de tranziții de fază ale materialelor. De exemplu, supraconductivitatea și magnetismul sunt efecte colective care apar în anumite metale pe măsură ce atomii lor individuali se aliniază. Prin răcirea acestor metale, fluctuațiile termice încetează, atomii devin foarte aliniați, iar sub o temperatură critică apar proprietăți calitative total diferite de supraconductivitate sau magnetism.

Cum ar putea fi fenomenele colective legate de conștiință? Transmisiile sinaptice ale neuronilor cerebrali sunt relativ lente, de câteva milisecunde per calcul - sunt de aproximativ 100.000 de ori mai lente decât un comutator tipic de computer. Cu toate acestea, problemele de vedere și limbaj pot fi rezolvate în câteva sute de milisecunde sau ceea ce ar părea a fi aproximativ 100 de pași seriali. Cercetătorii în Inteligență Artificială (AI) concluzionează că această bogăție de calcul este explicată de efectele colective ale paralelismului și ale interconectării bogate. Cu miliarde de neuroni și fiecare neuron conectat la sute de mii de alți neuroni, "conexioniștii" AI văd creierul ca un fenomen colectiv al neuronilor individuali proști. Grupurile de neuroni foarte conectați sunt considerate că ating comportamentul inteligent prin proprietățile de feedback și reverberație. Walter Freeman (1972, 1975, 1983) de la Universitatea din California, Berkeley, susține că o "masă critică" de aproximativ 100.000 de neuroni produce comportament inteligent. Cu toate acestea, comportamentul inteligent apare în viermii nematozi de 1000 de celule și 300 de neuroni, în citoplasma organismelor unicelulare și în interiorul neuronilor individuali. Neuronii individuali cu zeci până la sute de mii de conexiuni nu pot fi proști și își îndeplinesc multiplele funcții, integrează input/output și modulează forța de conectare sinaptică. Fiecare celulă nervoasă este un sistem sofisticat de prelucrare a informațiilor în sine! *Citoscheletul* din interiorul neuronilor și al tuturor celulelor vii este o rețea conectată paralelă care își poate utiliza propriile fenomene colective pentru a organiza și procesa informații subcelulare (Figura 1.3). *Citoscheletul* poate transmite modele analogice care pot fi simboluri conectate (Capitolul 8). Deși trecute cu vederea de cercetătorii AI, citoscheletul poate profita de aceleași atribute utilizate pentru a descrie rețelele la nivel neuronal. Proprietățile rețelelor care pot duce la efecte colective atât în rândul neuronilor, cât și al subunităților citoscheletului includ *paralelismul*, *conexionismul* și *cooperativitatea coerentă*.

## 1.3.1 Paralelismul

Generațiile anterioare de arhitectură a calculatoarelor s-au bazat pe conceptul von Neumann de procesare secvențială, serială. În procesarea serială, pașii de calcul se fac consecutiv, ceea ce consumă timp. Un singur *bit* de informație falsă poate duce la un rezultat haotic. Creierul, cu traseele sale nervoase extrem de paralele, strălucește ca o posibilă alternativă. În calculul paralel, informațiile intră într-un număr mare de căi de calcul care procesează datele simultan. În computerele paralele, procesoarele de informații pot fi independente unele de altele și pot funcționa la ritmuri individuale. Procesoare separate sau grupuri de procesoare pot aborda diferite aspecte ale unei probleme date asincron. De exemplu, Reeke și Edelman (1984) au descris un model de calculator al unei perechi paralele de automate de recunoaștere care utilizează caracteristici complementare (Capitolul 4). Procesarea paralelă necesită reconcilierea mai multor rezultate care pot diferi din cauza procesoarelor individuale care sunt influențate diferit decât omologii lor, care îndeplinesc funcții diferite sau din cauza erorilor aleatorii. Votarea sau reconcilierea trebuie să aibă loc prin conectare laterală, care poate funcționa, de asemenea, ca memorie asociativă. Rezultatul dintr-o matrice paralelă este un efect colectiv al intrării și procesării și este, în general, un consens care depinde de mai multe caracteristici ale intrării originale de date și de modul în care este procesată. Traseele paralele și conectate lateral ale fibrelor nervoase au inspirat cercetătorii în inteligența artificială să aprecieze și să îmbrățișeze paralelismul. Rețelele citoscheletice din celulele nervoase sunt extrem de paralele și interconectate, de o mie de ori mai mici și conțin milioane până la miliarde de subunități citoscheletice *per celulă nervoasă*!

Evoluția actuală a calculatoarelor către paralelism a generat „Connection Machine” (Thinking Machines, Inc.), care este o asamblare paralelă de 64.000 de microprocesoare. Oamenii de știință din domeniul informaticii de la începuturi ar fi fost impresionați de o asamblare de 64.000 de comutatoare, fără să-și dea seama că fiecare era un microprocesor. În mod similar, oamenii de știință cognitivă din ziua de azi sunt impresionați de miliardele de neuroni din fiecare creier uman, fără să ia în considerare că fiecare neuron este în sine complex. O altă etapă a evoluției calculatoarelor apare ca paralelism de rețea multidimensională sau „*hipercuburi*”. Hipercuburile sunt rețele de procesare a căror topologie de interconectare este văzută ca un cub „n-dimensional”. „Vârfurile” sau „nodurile” sunt procesoarele, iar „muchiile” sunt interconexiunile. Paralelismul în „n-dimensiuni” duce la *hipercuburi* care pot maximiza potențialul de calcul disponibil și, cu o programare optimă, duc la efecte colective. Conexiunile complexe observate între neuronii creierului și între structurile citoscheletice pot fi descrise mai precis ca o arhitectură de hipercub, mai degrabă decât un paralelism simplu. Hipercuburile sunt exemplificate în figurile 1.4, 1.5 și 1.6. AI/Roboticianul Hans Moravec (1986) de la Universitatea Carnegie-Mellon a încercat să calculeze „puterea de calcul” a unui calculator și a creierului uman. Luând în considerare numărul de „stări următoare” disponibile pe timp în cifre binare, sau biți, Moravec ajunge la următoarele concluzii. Un microcalculator are o capacitate de aproximativ $10^6$ biți pe secundă. Moravec calculează puterea de „calcul” a creierului presupunând 40 de miliarde de neuroni care pot schimba stări de sute de ori pe secundă, rezultând 40 x $10^{11}$ biți pe secundă. Includerea citoscheletului crește imens capacitatea potențială de prelucrare a informațiilor. Microtubulii sunt cele mai vizibile structuri citoscheletice. Făcând unele presupuneri grosolane despre densitatea citoscheletală (adică microtubulii distanțați la aproximativ 1000 de nanometri) și volumul de creier care este citoplasma neuronală, rezultă aproximativ $10^{14}$ subunități de microtubuli într-un creier uman (ignorând neurofilamentele și alte elemente citoscheletice). După cum este descris în capitolele 5 și 6, frecvența schimbărilor de stare a subunităților citoscheletice poate fi mai mare de miliarde pe secundă! Citoscheletul este capabil nu numai de o capacitate de informații imensă, dar pare a fi proiectat astfel încât modelele de stare conformațională în interacțiune pot efectua funcții de calcul. Mai multe teorii care propun astfel de mecanisme vor fi descrise în capitolul 8.

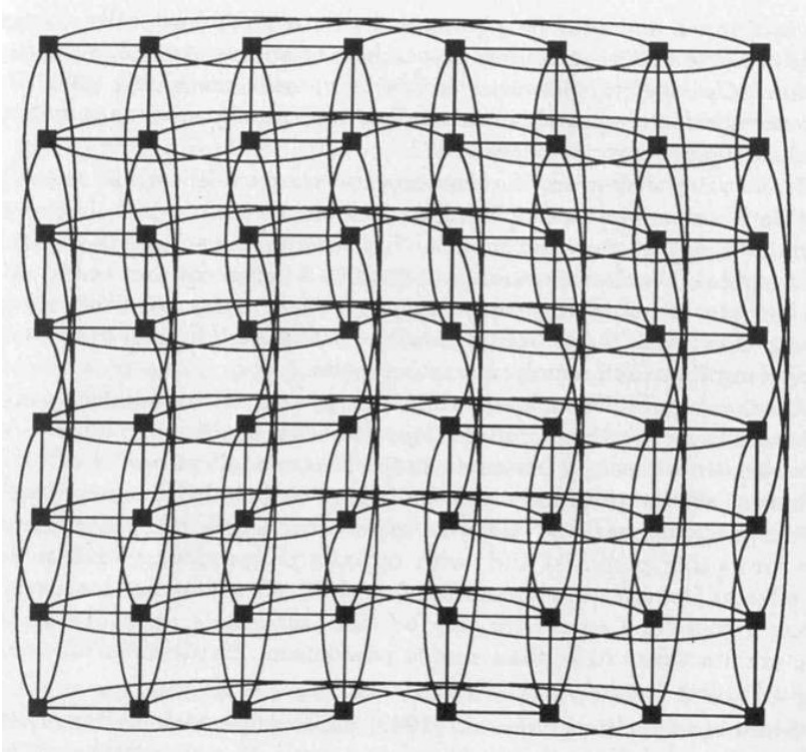

*Fig. 1.4: Hipercub de șase dimensiuni cu 64 de noduri și 6 conexiuni pe nod. Generare computerizată de Conrad Schneiker.*

Creierul este un sistem continuu. Calculatoarele clasice au funcţionat pe baza funcţiilor repetitive recursive pentru a procesa informaţiile în loturi, iar ieşirea este obţinută ca produs final. În mod similar, majoritatea modelelor de procesare paralelă au puncte discrete de intrare şi ieşire. Carl Hewitt (1985) a descris sistemele deschise din cadrul computerelor în care procesarea poate să nu se oprească niciodată, care pot furniza rezultate în timp ce calculul este încă în funcţiune şi pot accepta intrări din surse care nu au fost anticipate atunci când a început calculul. Ca şi creierul/mintea umană, sistemele deschise continue pot interacţiona cu mediul şi se pot adapta la situaţii noi. Hewitt descrie un sistem informatic paralel asincron care poate utiliza intrări şi ieşiri multiple şi ale cărui elemente paralele sunt conectate prin „arbitri" care „cântăresc" şi reconciliază conţinuturi diferite şi pot furniza intrări şi ieşiri continue. Printre neuronii din creier, "arbitrii" par a fi conexiunile sinaptice dintre neuronii paraleli conectaţi lateral. În cadrul citoscheletului, filamentele conectate lateral şi proteinele asociate microtubulilor („MAP") ar putea servi drept arbitri logici.

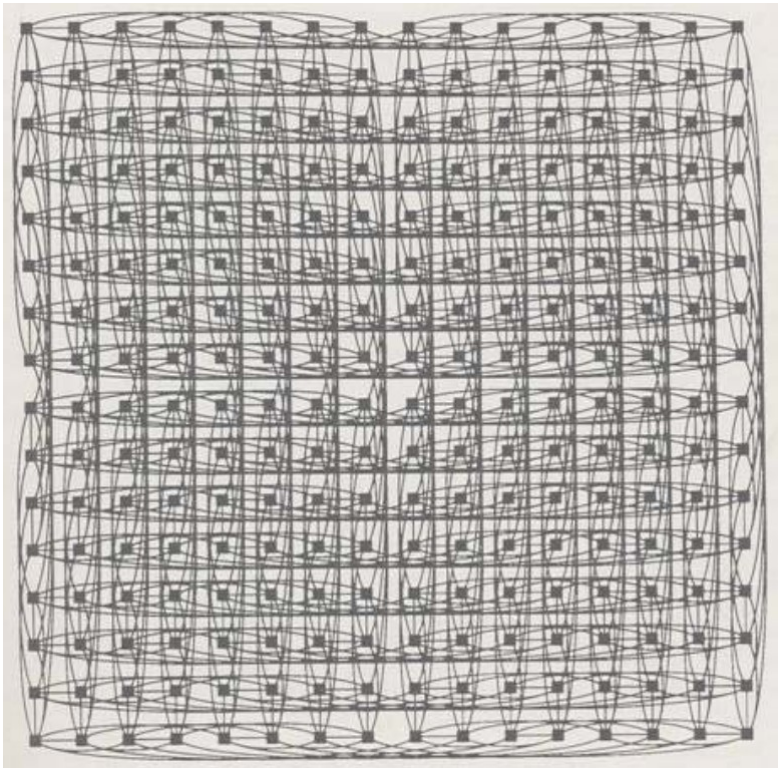

*Fig. 1.5: Hipercub de opt dimensiuni cu 256 de noduri şi 8 conexiuni pe nod. Generare computerizată de Conrad Schneiker.*

Hewitt susţine că sistemele paralele, deschise sunt „non-ierarhice", deoarece intrările şi ieşirile sunt procesate continuu în întregul sistem. Primele viziuni asupra organizării creierului/minţii presupuneau un aranjament ierarhic al unităţilor de procesare. Se credea că datele senzoriale erau prelucrate şi transmise la niveluri din ce în ce mai înalte de cunoaştere până când ajungeau la un singur „neuron bunic" sau la „ochiul minţii" care înţelegea „esenţa" datelor. Cercetările clasice asupra creierului efectuate de Lashley (1929, 1950) şi alţii (capitolul 4) sugerează cu tărie că memoria şi informaţiile sunt distribuite în întregul creier şi că nu există aranjamente anatomice ierarhice specifice care să conducă la „neuronii bunici". "Ochiul minţii" nu este localizat într-un anumit loc, ci este mobil pe volume mari de creier. Presupunând că oamenii înţeleg de fapt esenţa a cel puţin unele lucruri, cine sau ce înţelege? Locul şi natura atenţiei, a „sinelui", a conştiinţei sau a ochiului minţii rămân o problemă filosofică şi o barieră în calea fuziunii dintre minte şi tehnologie. Structura neuroanatomică şi stocarea distribuită a informaţiilor din creier indică existenţa unor sisteme de calcul creier/minte deschise, foarte paralele, care pot apărea atât la nivel neuronal, cât şi în interiorul neuronilor din citoschelet. Componenta de percepţie a conştiinţei, "ochiul minţii", poate fi o ierarhie mobilă determinată de dinamica colectivă.

## 1.3.2 Conexionism

Ochiul Minţii poate fi apogeul unei ierarhii colective de sisteme paralele, în care citoscheletul şi structurile înrudite sunt parterul. Sistemele paralele, atât în computere, cât şi în sistemele biologice, se bazează pe conexiuni laterale şi reţele pentru a oferi bogăţia şi complexitatea necesare pentru prelucrarea sofisticată a informaţiilor. Simulările pe calculator ale reţelelor conectate în paralel de comutatoare relativ simple ("reţele neuronale") dezvoltă "funcţii cognitive" la niveluri suficiente de complexitate a conectivităţii - un "fenomen colectiv" (Huberman şi Hogg, 1985). Filosoful John Searle (Pagels, 1984), care are o prejudecată de înţeles împotriva noţiunii că sistemele informatice pot atinge echivalenţa conştiinţei umane, subliniază că computerele pot face sarcini enorm de complexe fără a aprecia esenţa situaţiei lor. Searle aseamănă asta cu un individ care sortează caractere chinezeşti în categorii specifice, fără a le înţelege sensul, fiind incapabil să vorbească chineza. El aseamănă computerul cu individul care sortează informaţii fără a-i înţelege esenţa. Ar fi greu de dovedit că fiinţele umane înţeleg esenţa a ceva. Cu toate acestea, chiar şi simularea evenimentelor asemănătoare celor cognitive este interesantă. Modelele de reţea neuronală şi reţelele conexioniste (descrise mai departe în Capitolul 4) au fost caracterizate matematic de John Hopfield (1982) de la Cal Tech şi alţii. Munca sa sugerează că soluţiile la o problemă pot fi înţelese în termeni de minimizare a unei funcţii de energie asociate şi că erorile izolate sau datele incomplete pot fi, în limite, tolerate. Hopfield descrie funcţiile de energie ale reţelei neuronale ca având contururi ca dealuri şi văi într-un peisaj. Prin minimizarea funcţiilor de energie, informaţiile curg (metaforic) ca ploaia care cade peisajului, formând pâraie şi râuri până când apar stări stabile ("lacuri"). Un concept nou în teoria reţelei neuronale conexioniste a apărut odată cu utilizarea reţelelor pe mai multe niveluri. Geoffrey Hinton (1985) de la Universitatea Carnegie-Mellon şi Terry Sejnowski de la Universitatea Johns Hopkins au lucrat la permiterea reţelelor neuronale să găsească soluţii optime, cum ar fi găsirea celui mai jos lac dintr-un întreg peisaj. Potrivit lui Sejnowski (Allman, 1986; Hinton, Sejnowski şi Ackley, 1984) trucul este să eviţi să te blochezi într-o mică depresiune între doi munţi:

> Imaginaţi-vă că aveţi un model al unui peisaj într-o cutie mare şi doriţi să găsiţi un punct cel mai jos pe teren. Dacă aruncaţi o bilă în cutie, aceasta se va rostogoli o vreme şi se va opri. Dar este posibil să nu fie cel mai jos punct, aşa că zguduiţi cutia. După suficientă scuturare, de obicei o găsiţi.

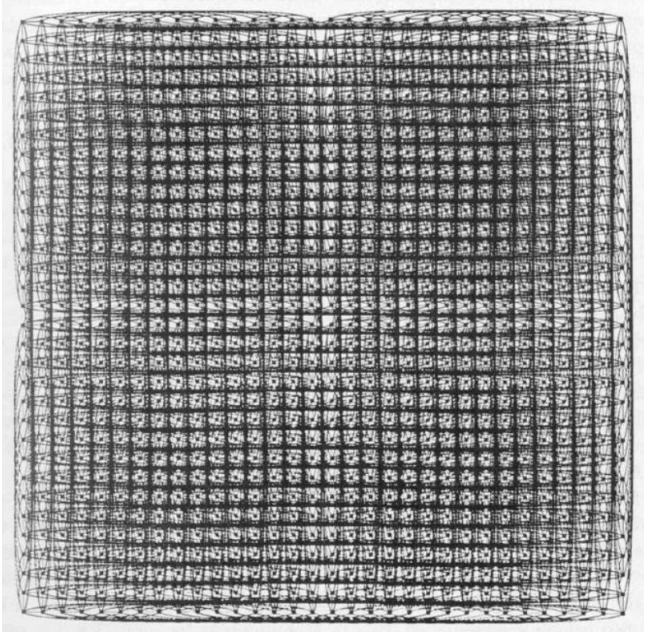

*Fig. 1.6: Hipercub de zece dimensiuni cu 1.024 de noduri şi 10 conexiuni pe nod. Generare computerizată de Conrad Schneiker.*

Hinton şi Sejnowski au folosit acest concept de a "scutura" matematic simulările lor de reţele neuronale pentru a găsi soluţii optime. Aceasta necesită o ierarhie multinivel de sisteme paralele, astfel încât un nivel să poată "scutura" sau ajusta un nivel inferior. O astfel de aranjare poate explica, probabil, relaţia dintre straturile ierarhice de sisteme paralele din creier. De exemplu, reţelele neuronale bazate pe conexiuni sinaptice pot regla (şi pot fi reglate de) reţele mai mici, mai rapide, mai cuprinzătoare din cadrul citoscheletului intracelular. Comparaţii ample între prelucrarea informaţiilor în creier şi inteligenţa artificială au fost revizuite de A. M. Decallatay (1986), care consideră că legile gândirii descrise în filozofie au fost redescoperite de IA: „Lumea mentală a lui Platon este reprodusă în simbolurile fizice ale lui Newell şi Simon”. DeCallatay observă că IA reprezintă datele prin pointeri virtuali care conectează simboluri. În computere, aceste relaţii virtuale sunt fire reale cu potenţiale conexiuni de porţi; în creier, acestea par a fi conexiuni sinaptice neuronale. În interiorul neuronilor, acestea pot fi filamente de punţi transversale care conectează microtubulii citoscheletici. Ca expert în calculatoare care evaluează creierul, DeCallatay afirmă că creierul învaţă prin deschiderea porţilor pentru a construi noi conexiuni între elementele activate simultan. El vede prezenţa sau absenţa spinilor dendritici jucând rolul unui comutator "totul sau nimic" la nivel neuronal. Spinii dendritici sunt proiecţii noduroase ale citoplasmei acoperite de membrană pe dendritele neuronale, care sunt generate şi menţinute de citoschelet şi formează sinapse cu alţi neuroni. Cea mai acceptată teorie pentru învăţare şi memorie în creier este cea a întăririi sinapselor specifice în cadrul circuitelor neuronale, o idee generată de Donald Hebb (1949). După cum va fi descris în capitolele 4 şi 5, activităţile structurale dinamice ale citoscheletului sunt responsabile pentru toate rearanjamentele citoplasmatice, inclusiv formarea şi reglarea spinilor dendritici şi a sinapselor. Spinii sunt ramificaţii ale dendritelor, care la rândul lor sunt ramificaţii ale neuronilor. O altă dimensiune de complexitate, aceste apendice citoscheletice sunt candidaţi principali pentru „plasticitatea sinaptică”, piatra de temelie pentru modelele predominante de învăţare şi memorie ale creierului.

### 1.3.3 Cooperare şi Coerenţă

Efectele colective, manifestate ca reverberaţie difuză, oscilaţie susţinută, tranziţii de fază şi haos determinist, au fost observate în simularea pe calculator a reţelelor paralele (Choi şi Huberman, 1984). Mecanismele colective pot exercita cooperare pe distanţe lungi şi un nivel executiv de organizare în cadrul matricelor paralele. Tranziţiile de fază colective în matricele paralele ale creierului ar putea fi o ţesătură a conştiinţei, o "idee" care apare ca proprietatea de superconductivitate dintr-un număr mare de subunităţi simple, "aliniate". În majoritatea viziunilor, sinapsa neuronală este subunitatea fundamentală a creierului, cu toate acestea, activităţile sinaptice sunt rezultatul net al proceselor dinamice orchestrate de citoschelet. Straturi de organizare citoscheletală sunt evidente în neuroni, iar participarea lor la funcţiile cognitive pare inevitabilă. Astfel, citoscheletul foarte ramificat poate fi o altă dimensiune a organizării creierului, poate legată de reţelele neuronale ca un "fractal". Multe procese naturale manifestă fractali, modele de creştere în care zonele locale sunt imagini reduse la scară ale întregului model. Acest lucru se produce printr-o formă de corelaţie pe distanţe lungi în model: componentele "ştiu una despre cealaltă la distanţe mult mai mari decât raza de acţiune a forţelor dintre ele" (Sander, 1986). Relaţiile fractale sunt un tip de cooperare pe distanţe lungi (Figurile 1.7 şi 1.8). Reţelele dens interconectate paralele de structuri citoscheletale seamănă cu reţelele neuronale la scară mai mare şi pot fi considerate subdimensiuni fractale ale reţelelor neuronale. Cooperarea pe distanţe lungi şi mecanismele colective sunt favorizate de proprietatea de coerenţă, ceea ce înseamnă că excitările energetice de vârf dintr-o zonă apar "în fază", sau simultan, ca într-un laser. Cum poate apărea coerenţa în procesele distribuite? DeCallatay (1986) propune ca coerenţa în creier şi AI să fie conferită de sus în josul unei ierarhii, ca directorul executiv al unei corporaţii care stabileşte obiective şi intenţii. O altă viziune este cea a unui ritm sau puls fundamental la care sunt acordate toate elementele. Cuplarea ritmică între neuroni poate fi importantă, iar unii interpreţi ai activităţii electrice a creierului (EEG) consideră că antrenarea undelor cerebrale regionale conduce la regiuni funcţionale de reprezentare

mentală. O coerență mai fundamentală la nivelul ansamblurilor proteice poate fi universal importantă pentru cooperarea și comunicarea biologică.

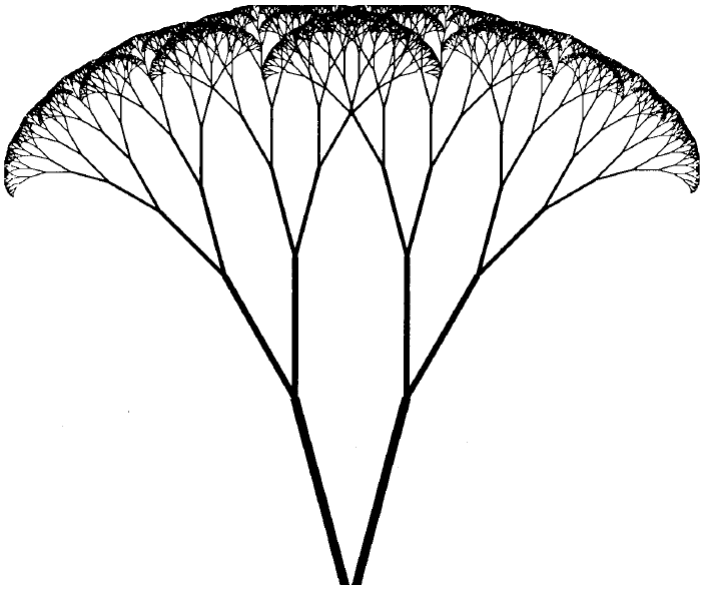

*Fig. 1.7: Arbore fractal în care modelele de ramificare sunt aceleași la fiecare scară sau dimensiune. Ordinea pe distanțe lungi este prezentă. Generare computerizată de Conrad Schneiker.*

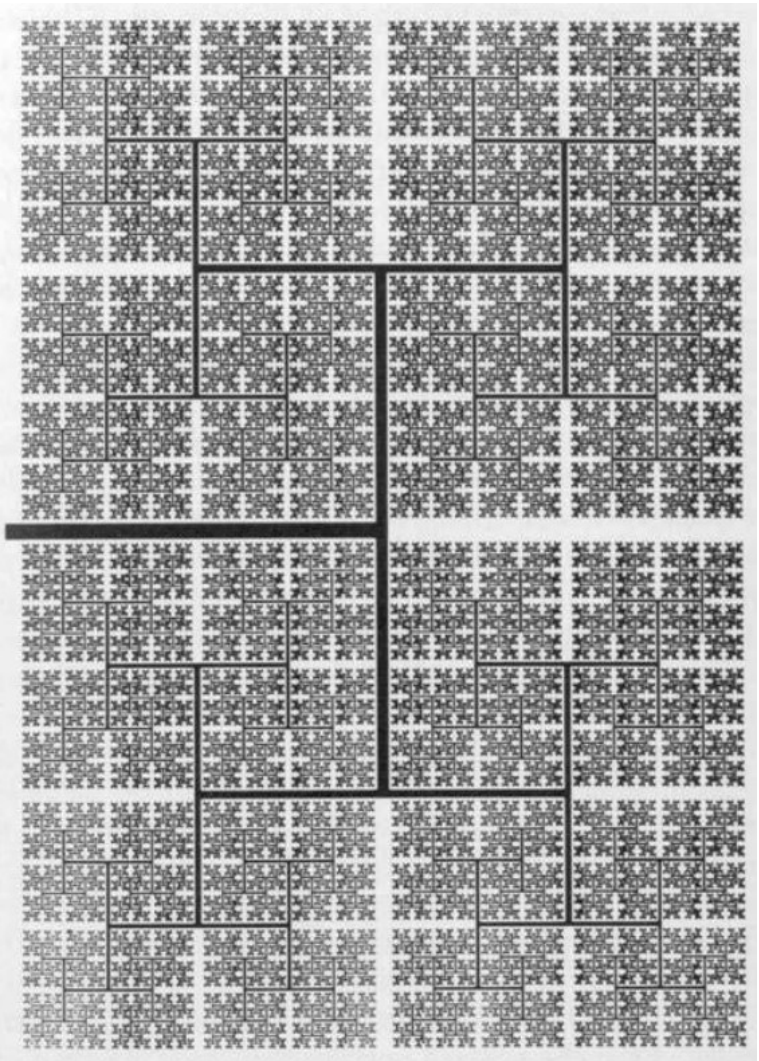

*Fig. 1.8: Fractal cu cutie ramificată în care modelele sunt identice la fiecare scară sau dimensiune. Este prezentă ordinea pe distanțe lungi Generarea computerului de către Conrad Schneiker.*

Proteinele şi componentele lor oscilează între stări conformaţionale specifice care există tranzitoriu pentru durate cuprinse între femtosecunde ($10^{-15}$ secunde) până la minute sau mai mult. După cum se va descrie în capitolul 6, stările conformaţionale funcţionale par cuplate la oscilaţii de nanosecunde ($10^{-9}$ secunde) şi la „stări metastabile" mai prelungite. Herbert Fröhlich, un fizician eminent care a contribuit la dezvoltarea teoriei supraconductivităţii în anii 1950, a dedicat eforturi recente întrebării cooperativităţii în sistemele biologice. Fröhlich (1970, 1975, 1984) argumentează că energia biochimică furnizată ansamblurilor biomoleculare poate duce la vibraţii elastice coerente ale subunităţilor individuale în intervalul de timp sub-nanosecundă. Efectul presupune un efect de tensiune în biomoleculă (adică un „electret") şi o structură spaţială organizată a cărei geometrie favorizează cuplarea între subunităţi. Oscilaţiile coerente într-un mediu adecvat, cum ar fi citoscheletul, pot duce la fenomene colective, cum ar fi cooperativitatea pe rază lungă, comunicarea şi holografia.

Un alt model poate ajuta la explicarea cooperativităţii pe rază lungă în biomolecule. Biofizicianul sovietic A. S. Davydov a luat în considerare transferul de energie aproape fără pierderi în lanţuri sau reţele biomoleculare ca propagări de tip val ale perturbărilor conformaţionale şi electronice cuplate: „solitoni". Davydov a folosit conceptul de *soliton* pentru a explica evenimentele la nivel molecular în contracţia musculară, cu toate acestea, *solitonii* din citoschelet pot face ceea ce fac electronii în computere.

Abordările Frohlich şi Davydov pot fi considerate complementare (Tuszynski, Paul, Chatterjee şi Sreenivasan, 1984). Modelul de coerenţă al lui Frohlich se concentrează pe efectele independente de timp (stări stabile) care duc la ordine, în timp ce modelul lui Davydov analizează efectele dependente de timp care propagă ordinea prin sistem. Aceste teorii şi alte teorii ale efectelor colective aplicate prelucrării informaţiilor în reţelele citoscheletice vor fi descrise în capitolele 6 şi 8.

## 1.4. Calcul molecular

Pentru a aborda capacităţile cognitive ale creierului uman, IA trebuie să emuleze structura creierului la scară nanometrică. Hardware-ul computerelor evoluează într-adevăr către componente de comutare mai mici, iar avantajele proteinelor însele sunt luate în considerare. Evoluţia mică a elementelor de calcul tehnologice cuprinde o serie de concepte şi materiale cunoscute colectiv sub denumirea de "calcul molecular". Avantajele potenţiale ale calculatoarelor moleculare au fost descrise de D. Waltz (1982) de la Thinking Machines Corporation. 1) Designul actual al computerelor "planare" este limitat în densitatea generală şi în utilizarea spaţiului tridimensional. 2) Miniaturizarea suplimentară este limitată cu tehnologiile siliciului şi arseniurii de galiu. Cipurile şi firele nu pot fi fabricate mult mai mici fără a deveni vulnerabile la radiaţii cosmice parazite sau impurităţi semiconductoare. 3) Dispozitivele bazate pe biomolecule pot oferi posibilităţi de auto-reparare sau auto-regenerare. 4) Anumite tipuri de calcul analogic, modelat, pot fi deosebit de potrivite pentru calculatoarele moleculare. Forrest L. Carter (1984) de la Naval Research Laboratory a catalizat mişcarea de calcul molecular prin contribuţiile sale şi prin sponsorizarea unei serii de întâlniri despre dispozitive electronice moleculare (în 1981, 1983, 1986). Strategiile descrise de Carter şi de alţii la întâlnirile sale au fost îndreptate spre implementarea calculului la scară nanometrică prin comutare în matrice de materiale de poliacetilene, filme Langmuir-Blodgett, molecule electro-optice, proteine şi o serie de alte materiale. Interfaţarea între dispozitivele la scară nanometrică şi tehnologiile la scară macro este un obstacol cu mai multe soluţii posibile: 1) inginerie în sus, componente auto-asamblante, 2) comunicare optică, 3) fire moleculare, 4) nu interfaţa; construirea de sisteme care sunt total la scară nanometrică (deşi ar trebui să fie cumva dezvoltate şi testate) şi 5) o punte sensibilă între macroscară şi nanoscară. Tehnologiile care pot îndeplini această ultimă posibilitate includ nanolitografia cu fascicul de ioni, spectroscopia moleculară, dispozitivele cu puţuri cuantice şi microscopia cu scanare tunelară (STM). În STM, poziţionerii piezo-ceramici controlează un conductor ultra-ascuţit cu un vârf monoatomic care poate sonda şi imagina suprafeţe de material cu rezoluţie la nivel atomic. Nanoutilaje STM pot fi în curând capabile de fabricaţie şi interfaţare ultraminiatură: "nanotehnologie" (Capitolul 10).

Mediul de transmitere a informațiilor în calculatoarele convenționale este fluxul de curent electronic, dar transferul de electroni poate fi prea costisitor din punct de vedere energetic și inutil la nanoscara moleculară. Multe dintre modurile proiectate de calcul molecular se bazează pe propagarea undelor de cuplare neliniare, numite "solitoni", similare cu ceea ce Davydov a propus pentru biomoleculele liniare. Carter (1981) a propus ca *solitonii* să se poată propaga prin circuite de comutare realizate din lanțuri ramificate de poliacetilenă. De asemenea, el a luat în considerare calculul molecular în șiruri periodice folosind tunelarea electronică, *"valving" soliton* și modificări conformaționale foto-activate în materiale de rețea. El prevede densități de memorie și comutare la scară moleculară tridimensională de $10^{15}$ până la $10^{18}$ elemente per centimetru cub, aproape de limita teoretică pentru separarea sarcinilor. Un număr de materiale pot fi potrivite pentru comutarea *solitonilor*, iar propagarea biologică a *solitonilor* în proteine a fost sugerată. Câțiva autori au pledat pentru *solitonii* cito-scheletici care mediază procesarea informațiilor (Capitolul 8). Michael Conrad de la Wayne State University și-a definit viziunea unui computer molecular în care proteinele integrează multiple moduri de intrare pentru a efectua o ieșire funcțională (Conrad, 1986). Pe lângă o scară de dimensiuni mai mică, calculul molecular bazat pe proteine oferă arhitecturi și dimensiuni de calcul diferite. Conrad sugerează că computerele "non-von Neumann, non-seriale și non-silicon" vor fi "dependente de context", cu intrarea procesată ca structuri fizice dinamice, modele sau simboluri analogice. Condițiile multidimensionale determină starea conformațională a oricărei proteine: temperatură, pH, concentrații ionice, voltaj, moment dipolar, vibrație electroacustică, starea de fosforilare sau hidroliză, starea conformațională a proteinelor vecine legate etc. Proteinele integrează toate aceste informații pentru a determina ieșirea. Astfel, fiecare proteină este un computer rudimentar și transformă o intrare analogică complexă într-o stare sau conformație de ieșire.

Conrad și Liberman (1982) au definit un „calculator extremal” ca fiind unul care utilizează resursele fizice cât mai eficient posibil pentru calcul. Aceștia sugerează că un calculator extremal ar trebui să fie un calculator molecular, cu comutatoare individuale sau subunități de reprezentare a informațiilor compuse din molecule. Starea fiecărei subunități de informații ar trebui să fie cuplată la un eveniment energetic aproape de limita cuantică. Stările conformaționale ale proteinelor exploatate la oscilațiile dipolilor la scară nanometrică pot fi acea limită. Conrad și Liberman concluzionează că, în cadrul sistemelor biologice, calculul macromolecular are loc prin schimbări conformaționale care generează „modele de reacție-difuzie” ale concentrațiilor de molecule biochimice energetice (AMP ciclic).

O conferință din 1984 (Yates, 1984) a luat în considerare *Proiectele de Calculatoare Bazate Chimic* (Yates, 1984) și a încercat să răspundă la 6 întrebări relevante. 1) Există limitări fundamentale, cuantice mecanice ale calculului? Această întrebare se referă la pierderea de energie din cauza frecării sau a altor factori în calcul. Lucrarea lui Benioff (1980, 1982), Landauer (1982) și Feynman (1986) a dus la concluzia că, în principiu, calculul poate fi realizat printr-un sistem fără frecare, care conservă energia. Astfel, se pare că nu există limitări cuantice mecanice ale calculului. 2) Există limitări fundamentale, termodinamice ale calculului? Deși există unele operațiuni de calcul care sunt ireversibile și disipative, lucrările lui Landauer (1982) și Bennett (1982) arată că nu există limitări termodinamice fundamentale ale calculului în sine. 3) Există limite fundamentale la procesarea serială pe computere digitale bazate pe comutatoare binare? Această întrebare are implicații filozofice (universul funcționează prin procese continue sau discrete?) și, prin urmare, nu poate fi răspuns cu certitudine. Consensul conferinței a fost că există probabil limite la calculul serial, digital. 4) Care sunt limitările fizice practice în proiectarea computerelor? Există mai multe limitări practice pentru miniaturizarea suplimentară a circuitelor de comutare digitale. Cu toate acestea, aceste limite probabil că nu vor fi atinse timp de zeci de ani. 5) Care sunt potențialele contribuții ale electronicii moleculare la proiectarea computerelor digitale? Conferința a luat în considerare modificările conformaționale moleculare, *solitoni*, fluxul de sarcină și alte abordări. Porțile moleculare, firele și comutatoarele pot merita să fie construite, deși redundanța și paralelismul pot fi necesare. 6) Sistemele biochimice inspiră imitații tehnologice în scopul

proiectării computerelor? Au fost revizuite multe sisteme biologice (ADN, anticorpi, receptori, enzime) şi o concluzie majoră a fost că,

> Niciunul dintre aceste materiale nu este la fel de bogat în fenomene fizice chemoelectrice ca obiectele biologice microscopice (citoscheletice). Microtubulii oferă cele mai multe posibilităţi pentru inspirarea calculului bazat pe chimic! (Yates, 1984)

## 1.5 Reprezentarea dinamică a modelului

Prelucrarea modelelor sau simbolurilor este favorabilă pentru calculul optim. Modelele pot fi reprezentate dinamic prin mai multe mecanisme descriptive care ar fi utile atât în inteligenţa artificială, cât şi în sistemele biologice. Acestea includ sisteme de reacţie-difuzie, holograme, macroni şi automate celulare.

### 1.5.1 Sisteme de reacţie-difuzie

Sistemele de difuzie a reacţiilor sunt modele evolutive care rezultă din diferite tipuri de reacţii şi difuzie a produselor într-un mediu dinamic. Sistemele biologice de difuzie a reacţiilor din citoplasma submembranară au fost sugerate de Conrad şi Liberman (1982) ca un mecanism de reprezentare a informaţiilor biologice. În modelul lor, modelele de difuzie a reacţiilor nucleotidei bogate în energie, AMP ciclic, care sunt reglementate de membrană, reprezintă textura informaţiilor citoplasmatice. Propagarea şi interacţiunea undelor chimice neliniare conduc la formarea de modele într-o serie de medii chimice şi biologice (Winfree şi Strogatz, 1984). În „reacţia Belousov-Zhabotinsky”, bine studiată, undele spirale de reacţie chimică se propagă cu viteză uniformă şi interacţionează cu alte unde pentru a produce modele complexe. Undele radiază din centrele spiralelor cu o viteză de câţiva milimetri pe minut, pe măsură ce spiralele se rotesc în aproximativ un minut. Mai multe reacţii chimice cu viteze de difuzie adecvate şi schimbări de culoare vizibile ale produselor de reacţie prezintă aceste modele caracteristice, la fel ca celulele de amibe cultivate care răspund la impulsuri de AMP ciclic (figura 1.9). Fenomene similare au fost semnalate şi în reţelele nervoase ale retinei şi cortexului şi în muşchiul inimii. Modelele de difuzie a reacţiilor la scară mai mică sunt în consecinţă mai rapide.

*Fig. 1.9: Modele spaţiale şi temporale autoorganizate descrise de sistemul chimic de reacţie-difuzie cunoscut sub numele de reacţia Belousov-Zhabotinsky şi emulat de sistemele biologice. Cu permisiunea lui Arthur Winfree.*

Winfree şi Strogatz (1984) au studiat comportamentul tridimensional al sistemelor de difuzie a reacţiilor. Aceştia au constatat că undele de difuzie a reacţiei apar de obicei ca spirale involute sau suluri care radiază din mici modele de activitate rotative numite „centre de organizare”. Şirurile emană de la axa lor centrală de organizare, care formează de obicei un inel închis sau un vortex toroidal. Originea undelor este definită ca o singularitate de fază a cărei vecinătate imediată este un model rotativ de activităţi chimice, pivotul undei spirale rotative din care radiază. Spirala aparent plată este, de fapt, o secţiune transversală a unei unde tridimensionale în formă de sul care iese dintr-un filament de singularitate în 3 dimensiuni (figura 1.10).

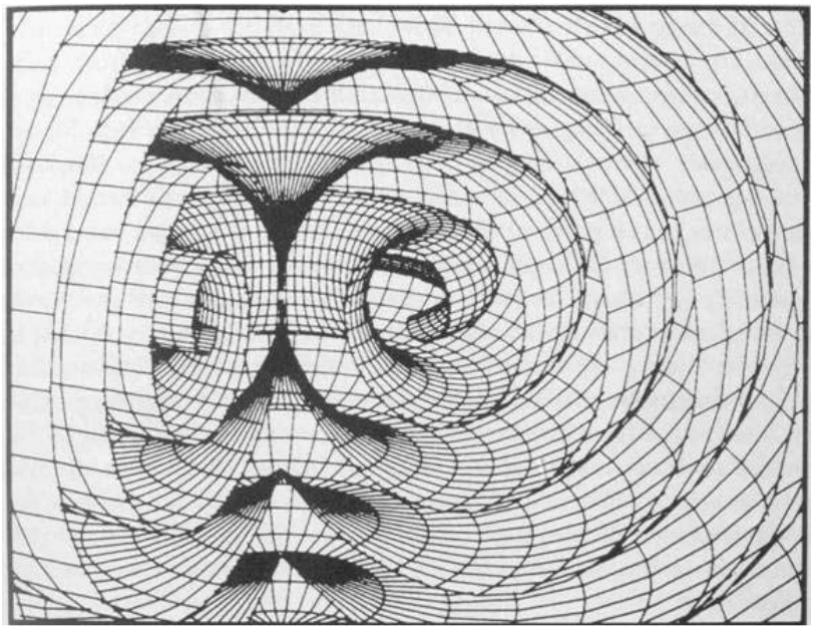

*Fig. 1.10: Simulare computerizată tridimensională a unui sistem de reacţie-difuzie. Un centru de organizare filamentoasă emană modele de tip „scroll ring”. Cu permisiunea lui Arthur Winfree.*

Microtubulii citoplasmatici şi centriolii sunt centre de organizare care s-ar putea comporta ca singularităţile descrise de Winfree şi Strogatz. Activităţile dinamice ale citoscheletului pot elibera valuri difuzante de ioni de calciu care pot modifica natura citoplasmei înconjurătoare prin transformări sol-gel (capitolul 5). Codarea de către proteinele asociate microtubulilor (MAP) şi alţi factori ar putea duce la modele de reacţie-difuzie specifice stării dinamice a centrului de organizare. Astfel de modele ar putea servi drept memorie pe termen scurt în celule care variază de la protozoare simple la neuronii creierului uman. Un alt tip de model interactiv, tridimensional, cu proprietăţi interesante este hologramа.

## 1.5.2 Holograme

Creierul stochează fişierele de imagini într-o manieră „distribuită”, care este rezistentă la deteriorările locale şi permite recuperarea corectă chiar şi atunci când sunt prezentate indicii sau adrese variabile. O explicaţie este aceea că memoria, învăţarea şi funcţiile cognitive în timp real sunt reprezentate în creier prin modele de interferenţă care reprezintă convergenţa a două sau mai multe trenuri de unde: semnal şi surse de informaţii de referinţă (Hudspeth şi Jones, 1975). Modelele de interferenţă pot fi dinamice, expresive, ordonate sau haotice; un exemplu este valul oceanului ca interfaţă şi monitor al efectelor colective ale vântului, curentului, plajei, mareelor, legăturilor de apă etc. Modelele de interferenţă sunt utilizate în tehnologiile informaţiei şi imaginii, cum ar fi interferometria, prelucrarea coerentă, filtrarea autocorelaţiei, recunoaşterea modelelor şi multe altele ale căror capacităţi sunt limitate de mediul de cuplare (Dolgoff, 1975). Tot spaţiul din univers este, după cum spunea filosoful german Leibniz din secolul al XVII-lea, ”rezultatul coexistenţei armonioase a forţelor”. De asemenea, conştiinţa poate fi descrisă ca fiind coexistenţa dinamică a forţelor din creier, deşi armonia poate varia în timp.

O metodă de înregistrare și reconstrucție a fronturilor de undă asociate cu modelele de interferență este numită "holografie", o tehnologie al cărei mecanism a inspirat numeroase speculații despre funcția "holografică" a creierului și conștiință. Holografia este o metodă de stocare a informațiilor care utilizează fascicule coerente de radiație electromagnetică. A fost inventată la sfârșitul anilor 1940 de Denis Gabor (1948), care a câștigat Premiul Nobel, și a căpătat importanță tehnică odată cu apariția laserului ca o sursă convenabilă de lumină coerentă în anii 1950. O hologramă este o înregistrare permanentă a modelului de interferență dintre două surse de lumină coerentă (sau orice forme de undă coerente) în regiuni localizate ale spațiului, de obicei o placă de film fotografic. Undele de referință ulterioare deblochează modelele din stocare. Se înregistrează atât undele originale de interferență, cât și informațiile relevante utilizate ca adresă pentru a recupera modelele. Fiecare porțiune a holoramei conține informații despre fiecare parte a ambelor unde originale de interferență. În consecință, re-iluminarea oricărui fragment mic dintr-o hologramă va recrea întreaga imagine stocată acolo, pierzând doar focalizarea sau claritatea. Astfel, hologramele stochează fișiere de imagini într-o manieră "distribuită", la fel ca modul în care se crede că funcționează creierul, și sunt, de asemenea, "fractale", în sensul că porțiunile mici sunt versiuni reduse ale întregului. Prin expunerea unei holograme la seturi variabile în timp de unde de interferență, aceasta poate funcționa ca o memorie distribuită. Aceste proprietăți au dus la o explozie de modele holografice ale creierului (Westlake, 1970; Longuet-Higgins, 1968; Pribram, 1971). Printre acestea, van Heerdon (1968) a discutat metodele de stocare optică a informațiilor în solide folosind lumină coerentă. Van Heerdon a subliniat că astfel de sisteme pot stoca cantități mari de informații, deși necesită un sistem de calibrare pentru a menține relații exacte de fază între unde. Cerințele pentru filtre bine acordate sau rezonatoare coerente pentru a menține relațiile de fază între modele în domeniul spațial rămân o problemă majoră în ceea ce privește modelele holografice ale funcției creierului și ale memoriei. În consecință, existența biologică a hologramelor a fost pusă sub semnul întrebării, pe baza presupunerii că coerența și relația de fază ar trebui să fie furnizate la nivel celular sau neuronal. Cu toate acestea, coerența la scară nanometrică poate avea periodicitatea spațială și temporală necesară pentru a genera holograme citoplasmatice. Cristalele fotorefractive pot produce holografie dinamică, în timp real (Gower, 1985). Dinamica conformațională a citoscheletului ar putea regla și genera unde staționare coerente și modele de interferență ale câmpurilor de gradient de calciu, stări sol-gel și structura rețelei microtrabeculare citoscheletice (Capitolele 6 și 8). Modelele intracelulare dinamice și deterministe ar fi utile în activitățile biologice de tot felul. Modelele holografice ale conștiinței, inclusiv o abordare citoscheletală, vor fi descrise în continuare în capitolele ulterioare.

### 1.5.3 Macroni

Evoluția formei și a informației din haos a fost denumită „morfogeneză” și legată de literatura filozofică din multe culturi. Matematicianul Ralph Abraham (1976) a comparat descrierile matematice ale evoluției dinamice a formei biologice cu *Rigveda*, *I-Ching*, *Kabala* și Heraclit. Folosind teoria catastrofelor a lui Rene Thorn (1973) și un dispozitiv observațional, macroscopul lui Hans Jenny, Abraham a studiat modele vibraționale colective care apar pe scară largă în natură și pe care le numește „*macroni*”. Abraham descrie categorii fizice, chimice și electrice de *macroni*, care pot fi subdivizate în funcție de starea materială a mediului *macron*. De exemplu, *macronii* fizici pot apărea într-un solid, lichid izotrop, cristal lichid sau gaz. Abraham citează un exemplu de *macron* solid: dacă o placă metalică plată este vibrată transversal de o forță externă, cum ar fi traductoare electromecanice cuplate, un model vibrațional poate fi observat ca o „pânză de păianjen” de curbe nemișcătoare (liniile nodale „Chladni”). Observate inițial prin presărarea nisipului pe o placă vibratoare, aceste modele au fost observate mai recent prin interferometrie laser. Modelul este „*macronul*” și depinde de dimensiunile intrinseci și elasticitatea mediului, precum și de frecvența și amplitudinea extrinsecă a forței motrice. Placa este un exemplu bidimensional, cu toate acestea, o minge de cauciuc simplă poate fi vizualizată cu moduri vibraționale stabile caracterizate prin distorsiuni simetrice ale formei, separate de suprafețe nodale nemișcătoare. Un alt exemplu de *macron* este o farfurie rotundă umplută cu un strat subțire de lichid izotrop. Dacă fundul vasului

este încălzit, lichidul va începe în curând să fiarbă; observația atentă dezvăluie linii nodale și hexagoane ambalate, numite celule Benard, în interiorul cărora lichidul se convecționează toroidal. Acest fenomen Benard, observat și ca modele induse de vânt în nisipurile din Sahara și din alte deșerturi, este, de asemenea, considerat de Abraham ca un *macron*. Acești *macroni* sau moduri stabile depind, de asemenea, de controalele intrinseci, cum ar fi forma, compresibilitatea și vâscozitatea, și de controalele externe, cum ar fi frecvența și amplitudinea forței motrice.

Alte forme de *macroni* descrise de Abraham includ inele de fum, opalescențe precum coaja de abalone și aurora boreală sau luminile nordice. Trecând la creier, Abraham concluzionează: „un gând este un *macron* al bioplasmei creierului”. El propune că modelele spațiale ale EEG sunt *macroni* electrici la suprafețele dendritice sau că *macroni* apar în interiorul celulelor nervoase. El sugerează că întărirea repetitivă a *macronilor* specifici îi „întărește” într-o formă structurală într-un mecanism de învățare. *Macronii* lui Abraham pot fi comparați cu unde staționare, sisteme de reacție-difuzie și holograme, care pot manifesta toate modele analogice tridimensionale de informații interactive potrivite pentru citoschelet. Un alt sistem „digital” de modele interactive în rețele dinamice este „automatul celular”.

## 1.5.4 Automate celulare

Comportamentul complex rezultat din activitățile colective ale subunităților simple apare în "automatele celulare". Automatul celular original al lui Von Neumann (1966) consta dintr-un număr mare de "celule" identice conectate într-un model uniform. Termenul "celulă" a fost ales de Von Neumann și de alții ca subunitate indivizibilă în "automatele celulare", pe baza "celulelor" biologice ca subunități indivizibile ale vieții. La fel ca atomii, cândva indivizibili, care sunt acum recunoscuți ca fiind compuși din electroni, protoni, neutroni, quarci etc., este acum evident că celulele biologice sunt entități complexe ale căror acțiuni depind de funcțiile colective ale structurilor intracelulare, inclusiv citoscheletul. Cu toate acestea, "celular" în jargonul automatelor celulare înseamnă un grăunte indivizibil, o subunitate discretă cu un număr finit de stări. Caracteristicile esențiale ale automatelor celulare sunt 1) la un moment dat, fiecare celulă se află într-una dintre mai multe stări. 2) Celulele sunt organizate conform unei geometrii fixe. 3) Fiecare celulă comunică doar cu alte celule din vecinătatea sa; dimensiunea și forma vecinătății sunt aceleași pentru toate celulele. În funcție de geometrie, numărul de vecini poate fi 4 (rectangular), 6 (hexagonal), 8 (rectangular cu colțuri) sau mai mulți vecini per subunitate sau celulă. 4) Există un ceas universal. Fiecare celulă se poate schimba într-o nouă stare la fiecare impuls al ceasului, în funcție de starea sa prezentă și de stările prezente ale vecinilor săi. Regulile de schimbare a stării sunt numite reguli de tranziție ale automatelor celulare. La fiecare impuls al ceasului (sau "generație"), comportamentul fiecărei celule depinde doar de stările vecinilor săi și de starea sa. În automatul celular, regulile simple de vecinătate pot duce la modele complexe și dinamice.

Automatele celulare pot fi considerate similare cu modelele de rețea, cum ar fi un generator Ising bidimensional. Pe baza stărilor de spin magnetic ale componentelor dintr-o rețea, generatoarele Ising evoluează spre modele stabile în care stările de spin opus se aliniază într-o direcție, iar spinurile similare se aliniază în altă direcție. Un generator Ising bidimensional generalizat este prezentat în Figura 1.11. Modelele de automate celulare în microtubuli (Capitolul 8) evoluează spre stări similare în care stările opuse se aliniază într-o direcție, iar stările similare se aliniază în altă direcție (Figura 1.12). Von Neumann a studiat modul în care automatele celulare ar putea efectua calcule utile. El a presupus că un număr mare de celule încep într-o stare de repaus sau inactivă și că intrarea a fost codificată prin plasarea unui număr de celule contigue într-un model specific. Apoi, rulând ceasul printr-o secvență de generații, o ieșire poate fi obținută prin modelele de stări la un moment ulterior. Un automat celular se spune că este universal calculator dacă, pentru orice problemă rezolvabilă, există o configurație inițială a automatului celular care evoluează într-o configurație care conține soluția. În ceea ce privește implementarea unor astfel de capacități de calcul, accesul la fiecare celulă trebuie stabilit pentru a-și seta starea inițială și a-și citi starea finală. Von Neumann a descoperit un automat celular universal construibil în care o configurație inițială a unui număr mic de celule ("constructorul") poate seta stările inițiale ale

celulelor îndepărtate la modelul necesar pentru a rezolva orice problemă. Constructorul comunică cu celulele îndepărtate prin celule intermediare conform regulilor de tranziție. Dacă un automat celular este universal construibil, acesta poate fi "programat" pentru a rezolva orice problemă, chiar dacă doar câteva celule pot comunica cu lumea exterioară. Mai multe automate celulare universale construibile au fost concepute în simulare; "constructorii" ca modele de conformație a subunităților citoscheletice ar fi mecanisme utile pentru calculul biologic.

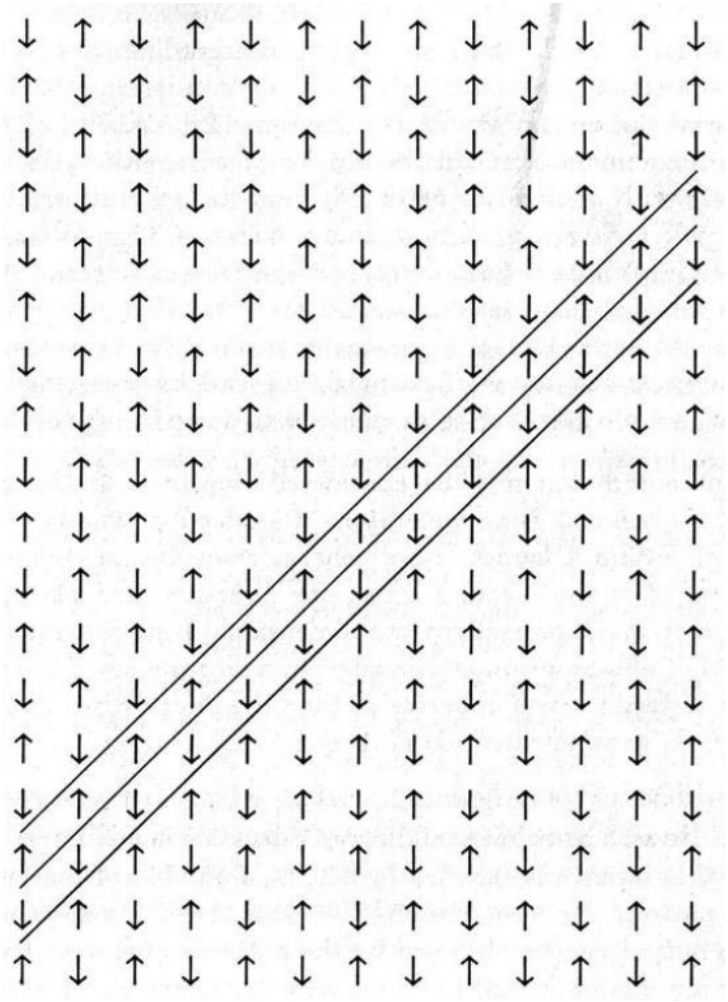

*Fig. 1.11 Generatorul Ising bidimensional evoluează către o stare stabilă de stări de spin opuse aliniate orizontal și stări de spin asemănătoare aliniate diagonal. Această configurație stabilă este similară simulării automatului MT (figura 1.12). Generare computerizată de Conrad Schneiker.*

Automatele celulare sunt subiecte frecvente ale rubricilor *Jocuri Matematice* ale Scientific American. Scrise de Martin Gardner și, mai recent, A. K. Dewdney, aceste rubrici s-au concentrat intermitent pe jocul "Life", un automat celular inventat de matematicianul din Cambridge John Conway în 1968 (Gardner, 1970). "Life" se joacă pe o grilă bidimensională mare de celule pătrate. Fiecare celulă are opt vecini, patru la margini și patru la colțuri, și există într-una din două stări: "moartă" sau "vie". La fiecare generație, celulele pot muri sau pot prinde viață, soarta lor fiind determinată de numărul de vecini vii. De exemplu, o celulă vie cu mai puțin de doi vecini vii sau cu mai mult de trei nu va supraviețui (respectiv din cauza lipsei de hrană sau a suprapopulării). O celulă moartă se va naște într-o generație ulterioară dacă are exact trei vecini vii (sau "părinți"). Jocul lui Conway a fost numit "Life" deoarece celulele puteau fi fie moarte, fie vii, cu toate acestea, comportamentul modelelor de celule "vii" includea unele comportamente "asemănătoare vieții". Acestea includeau mișcarea prin grilă și modele oscilatorii care au ajuns să fie numite *blinkers*, *beacons*, *gliders* și *beehives*. Repetând von Neumann, deși într-un format mult mai simplu, Dewdney (1985) a arătat că un computer ar putea exista în cadrul jocului Life.

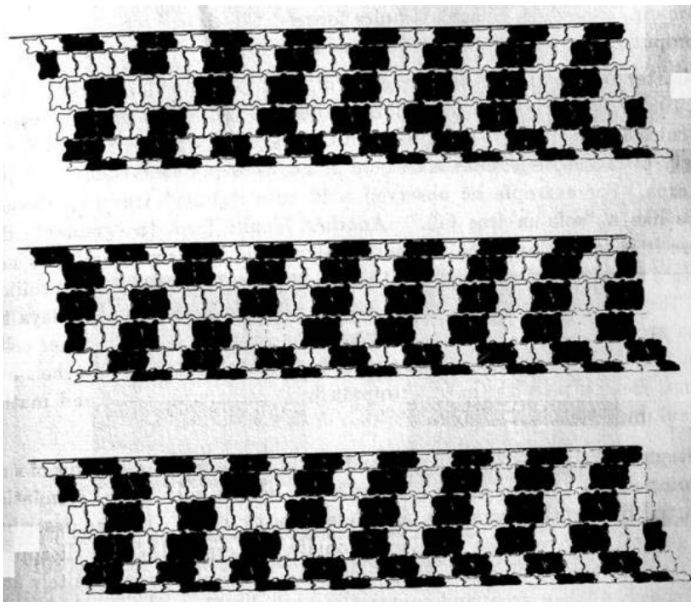

*Fig. 1.12: Modelul automatului celular în microtubuli (capitolul 8) atinge o stare stabilă în care stările opuse sunt aliniate de-a lungul axei lungi a MT, iar stările similare sunt aliniate de-a lungul rândurilor. Se observă un model de tip „tlkink" care se deplasează prin structură. De Paul Jablonka.*

Carter Bays a extins jocul "Life" la trei dimensiuni (Dewdney, 1987). În versiunea sa, fiecare celulă este un cub cu 26 de vecini, dar regulile vecinității sunt, în esență, aceleași cu cele din "Life"-ul bidimensional al lui Conway. O varietate de comportamente interesante apar în "Life"-ul lui Bay, în funcție de modelele inițiale. De exemplu, el a observat un "glisor" cu 10 cuburi care călătorește prin spațiu ca o "canapea în cădere liberă". O altă formă cu 7 cuburi (un "*greeter*") moare decât dacă se află în prezența altei structuri. Glisoarele care trec pe lângă *greeters* sunt prinse și ținute până când sunt salvate de un al doilea glisor care se ciocnește cu *greeterul* represiv. Alte modele stabile apar pe care Bays le-a numit arcade, scări, spirale și bariere spațiu-timp. Life și alte automate celulare i-au captivat pe pasionații de calculatoare care își pot crea acum propriile tărâmuri. Dincolo de asta, automatele celulare au implicații științifice și matematice serioase.

Stephen Wolfram (1984) a privit automatele celulare ca sisteme de componente simple capabile de efecte colective complexe, cum ar fi simularea ecuațiilor diferențiale parțiale și a haosului determinist. El a descris patru comportamente generale pentru modelele de automate celulare. 1) Ele dispar cu timpul, 2) ele evoluează până la o dimensiune finită fixă, 3) ele cresc indefinit cu o viteză fixă, 4) ele cresc și se contractă neregulat. Tipul trei, care crește indefinit cu o viteză fixă, se constată adesea că este auto-similar la scară; părțile unor astfel de modele, atunci când sunt amplificate, sunt indistinguibile de întreg. Astfel, aceste modele de automate celulare sunt caracterizate de o dimensiune fractală.

Wolfram observă că mecanismele de prelucrare a informațiilor în sistemele naturale par mai asemănătoare cu cele din automatele celulare care sunt foarte paralele decât cu computerele convenționale de procesare serială. "Rezultatele" sunt date de configurația obținută; "mediul este mesajul". Mai mult, "este obișnuit în natură să găsim sisteme a căror complexitate este generată de efectul cooperativ al multor componente simple identice". Automatele celulare sunt sensibile la condițiile inițiale, iar comportamentul lor este caracterizat de stabilitatea sau predictibilitatea comportamentului lor sub perturbări mici în configurațiile inițiale. Cu un set dat de reguli, schimbările într-o singură valoare a site-ului inițial pot duce la modele marcant diferite. Astfel de perturbări au efecte caracteristice asupra celor patru clase de automate celulare ale lui Wolfram: 1) nicio modificare a stării finale, 2) modificări numai într-o regiune finită, 3) modificări într-o regiune tot mai mare, 4) modificări neregulate. Astfel, cel puțin unele modele de automate celulare sunt neliniare și deterministe.

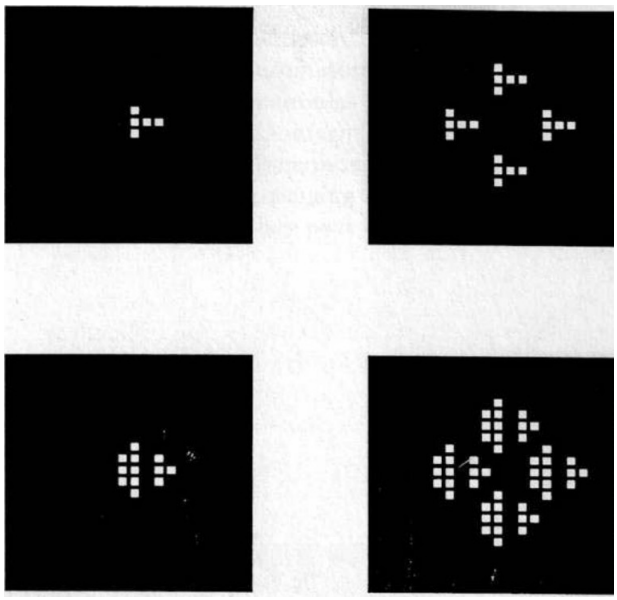

*Fig. 1.13: Automate autoreplicante descrise de Edward Fredkin (Dewdney, 1985). "Stările oprite sunt reprezentate ca fiind toate negre. Generare computerizată de Conrad Schneiker.*

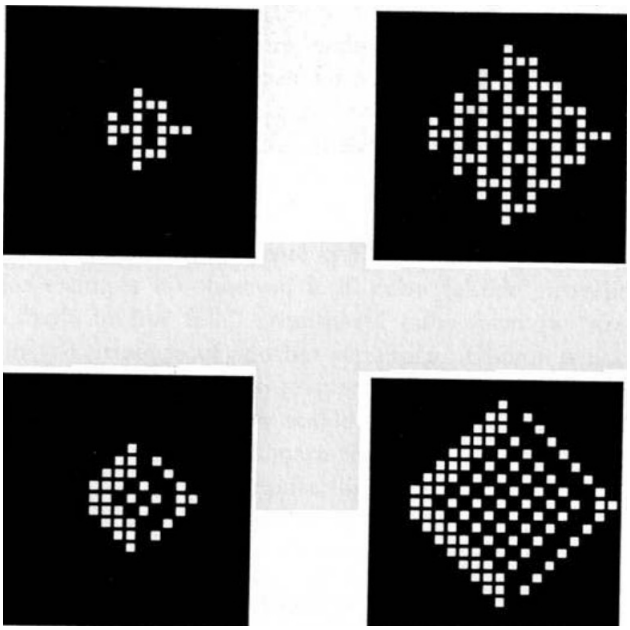

*Fig. 1.14: Automate autoreplicante descrise de Edward Fredkin (Dewdney, 1985). Generare computerizată de Conrad Schneiker*

Automatele celulare pot fi atribuite existenței într-o varietate de medii. Poate cea mai extremă viziune este că universul este un automat celular. Edward Fredkin de la MIT susține că universul ar putea funcționa conform aceloraşi principii ca un automat celular (Wright, 1985). El crede că materialul de bază din care este alcătuit totul poate fi considerat informație mai degrabă decât masă și energie. Lucrând la interfața dintre fizică și informatică, Fredkin a devenit fascinat de relațiile dintre automatele celulare și natură. Cu regulile potrivite, un automat celular poate simula formarea unui fulg de zăpadă, a unei cochilii de moluște sau a unei galaxii. Viziunea lui Fredkin este de a aplica automatele celulare la niveluri fundamentale ale fizicii și regulilor necesare pentru a modela mișcarea moleculelor, atomilor, electronilor și quarcurilor. Cu suficiente informații pentru a modela aceste particule, poate fi proiectat un automat care să descrie lumea fizică cu o precizie perfectă. La acel nivel, spune Fredkin, universul este un automat celular în trei dimensiuni: o rețea de unități logice care interacționează, fiecare decizând de miliarde de ori pe secundă dacă va fi

„oprit sau pornit” în momentul următor. Fredkin vede această informație ca fiind țesătura realității, materialul din care sunt făcute materia și energia. El susține că automatele celulare pot reprezenta universul la fel de util ca ecuațiile diferențiale, alternativa matematică prevalentă. Viziunea automată celulară este de departe cea mai simplă. Un copil poate înțelege regulile care guvernează un automat celular și cu creionul, hârtia și suficient timp poate prezice cursul unui automat, inclusiv cartografierea creșterii unui fulg de zăpadă, a undelor dintr-un iaz sau a unei unde sonore. Automatele celulare sunt limbajul informațiilor pure și pot fi implicate în procesarea informațiilor biologice, precum și în viitoarele dispozitive informatice. Forrest Carter (1984) de la Naval Research Lab și James Milch (1986) de la Eastman Kodak au propus amândoi construcția automatelor moleculare, exaltând virtuțile conceptului de automat celular aplicat problemelor de interfațare cu dispozitivele la scară moleculară. Cu un computer molecular cu automat celular mare, comunicarea cu lumea „macro” trebuie să interacționeze doar cu un „constructor”, o mică parte care poate beneficia de întreaga capacitate a automatului celular. Subunitățile microtubulilor citoscheletici pot fi deosebit de potrivite pentru comportamentul de automat „celular” și procesarea informațiilor la scară nanometrică. Automatele citoscheletice și consecințele lor dinamice pot fi un substrat important al calculului biologic, variind de la acțiunile celulelor unice până la conștiința creier/minte. Vor deschide ele calea către Computerul Final?

# 2. Creier/Minte/Calculator

## 2.1 Metafore ale Conștiinței

Sistemele pentru procesarea informațiilor evoluează atât în organismele biologice, cât și în tehnologiile informatice. Cel mai evoluat sistem de procesare a informațiilor pare a fi în prezent conștiința umană, care rezidă în creierul uman. Relațiile științifice dintre conștiință și activitățile structurale ale creierului rămân obscure și sunt adesea denumite "dualitatea" creier/minte. Pentru a explica această dualitate, oamenii și-au perceput istoric mințile în contextul temelor culturale predominante, în special al tehnologiilor informaționale. Autorul Julian Jaynes (1976) a consemnat modul în care metaforele minții sunt lumea pe care o percepe. Traseul metaforelor creier/minte a început probabil în epoca de aur a grecilor. Potrivit lui Platon, Socrate spunea:

> Imaginați-vă... că mințile noastre conțin un bloc de ceară... și spuneți că, ori de câte ori dorim să ne amintim ceva ce auzim sau concepem în propriile noastre minți, ținem această ceară sub percepții sau idei și le imprimăm pe ea așa cum am putea imprima impresia unui inel de sigiliu.

Grecii călătoreau liberi (în timp ce sclavii lor făceau munca) și conștiința era percepută de oameni liberi ca o entitate liberă. Heraclit a descris conștiința ca un "spațiu enorm ale cărui limite nu ar putea fi niciodată descoperite". Mai târziu, Augustin din Cartagina a descris "munții și dealurile înaltei mele imaginații", "câmpiile și peșterile și cavernele memoriei mele" cu "camere spațioase minunat mobilate cu nenumărate rezerve".

Descoperirile geologice din secolul al XIX-lea au revelat o înregistrare a trecutului scrisă în straturi ale scoarței terestre. Conștiința a fost privită ca straturi care înregistrează trecutul unui individ în straturi din ce în ce mai profunde, până când înregistrarea originală nu a mai putut fi citită. Această accentuare a minții inconștiente a crescut până la sfârșitul secolului al XIX-lea, când majoritatea psihologilor credeau că „conștiința” era doar o mică parte a minții. Pe măsură ce chimia a înlocuit geologia în aprecierea științifică, conștiința a fost privită ca o structură compusă care putea fi analizată într-un laborator în elemente precise de senzații și sentimente. Când motoarele cu abur au devenit obișnuite, subconștientul a fost perceput ca un cazan de energie tensionată care cere eliberare și, când era reprimat, împingea în sus și în afară în comportament nevrotic. La începutul secolului al XX-lea, metaforele minții au continuat să cuprindă tehnologii pentru procesarea informațiilor, cum ar fi circuitele de comutare telefonică, înregistratoarele cu bandă, ceasurile, hologramele și computerele.

Computerul este cea mai recentă metaforă a creierului/minții și a evoluat calitativ dincolo de predecesorii săi (la fel ca conștiința umană). Tehnologia computerelor s-a apropiat și, în unele cazuri, a depășit unele aspecte ale funcției creierului uman, cum ar fi calculele de „forță brută”. Computerele pot fi, de asemenea, utilizate pentru a simula sisteme dinamice (inclusiv creierul), oferind astfel un mediu metaforic. În eforturile de a construi mașini de calcul capabile de logică independentă și luare a deciziilor, cercetătorii în inteligența artificială (AI) au examinat ceea ce se știe despre funcționarea creierului și a minții. În consecință, ei au fost conduși de la computerele clasice „seriale” spre sisteme masiv paralele cu grade ridicate de interconectare laterală. Deoarece creierul, la prima vedere, este o agregare paralelă de miliarde de neuroni cu zeci de mii de conexiuni per neuron, cercetătorii AI ai școlii conexioniștilor au privit și modelat creierul ca „rețele neuronale” care pot fi simulate pe computere convenționale. Aceste modele de rețea neuronală, care vor fi discutate ulterior în această carte, se bazează pe presupuneri relativ simple cu privire la sinapsele interneuronale ca comutatoare între neuroni. Modelele dinamice ale activității rețelei neuronale pot simula sisteme capabile de învățare, recunoaștere independentă, diferite stări „mentale” și, cu o oarecare imaginație, conștiință rudimentară. Arhitectura generală a computerelor paralele este similară cu neuronii din creier și poate beneficia de procesarea simultană cu rezoluție laterală a conceptelor conflictuale. În ciuda acestor similitudini aparente, complexitatea creierului și

vastitatea dinamică a conştiinţei umane rămân inaccesibile tehnologiei actuale. Mintea rămâne enigmatică pentru creier şi computer.

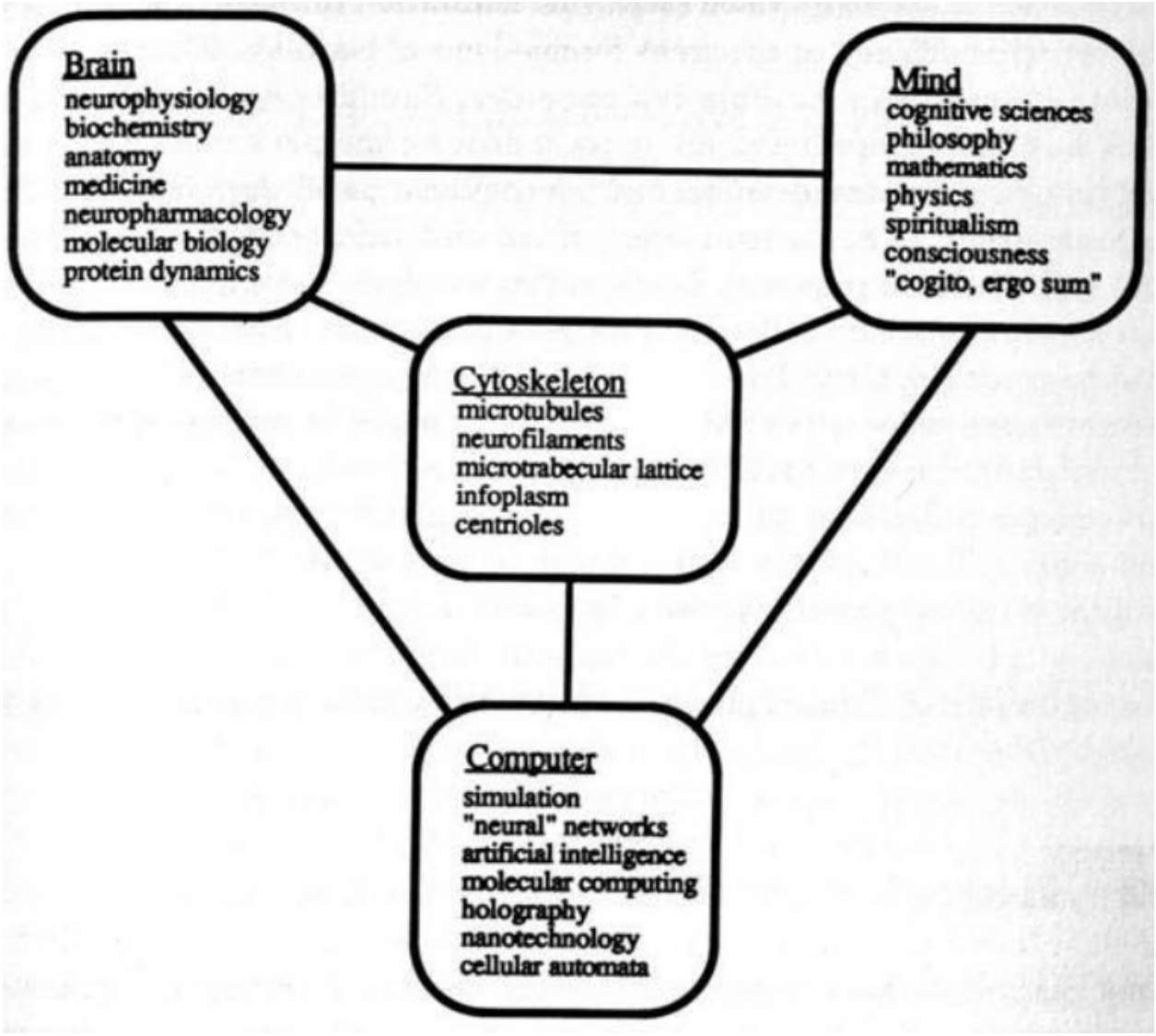


*Fig. 2.1: Triunghiul metaforic Creier/Minte/Computer. Este citoscheletul cheia înţelegerii?*

Creierul, mintea şi computerul sunt reciproc metaforice; fiecare este legat de celelalte în moduri care nu sunt clar înţelese. Acest impas, "triunghiul creier/minte/computer", se bazează pe o presupunere incorectă. Substratul ireductibil al procesării informaţiilor în cadrul creierului a fost presupus a fi sinapsa interneuronală, notoriu de lentă. În consecinţă, sinapsele au fost comparate cu întrerupătoare simple, iar creierul a fost comparat cu un computer compus dintr-o colecţie de întrerupătoare sinaptice. Deoarece fiecare neuron din creier are până la câteva sute de mii de sinapse, acesta trebuie să "integreze" informaţii de la aceste sinapse pentru a-şi regla ieşirea. Neuronii utilizează o varietate de funcţii analogice, inclusiv morfologia dendritică, proprietăţile membranare cu unde lente şi activităţile citoscheletice care determină răspunsurile lor în reţelele neuronale şi care modifică eficacitatea sinaptică ca mecanisme aparente de învăţare. Astfel, fiecare dintre miliardele de neuroni din creier este un computer. În mod similar, organismele unicelulare care nu au sinapse şi sunt agenţi independenţi îndeplinesc sarcini complexe care implică luarea de decizii rudimentare, comportament şi organizare. Astfel, substratul ireductibil de bază al informaţiilor ar trebui să rezide în celulele biologice, iar creierul poate fi apoi privit ca o asamblare organizată de miliarde de computere în care proprietăţile emergente colective pot fi legate în mod specific de conştiinţă. Ierarhia organizării creierului poate avea astfel un subsol secret - o nouă "dimensiune". Progresele în imagistica intracelulară şi biologia moleculară au ilustrat organizarea

dinamică complexă a citoplasmei intracelulare. Mai exact, o rețea densă, paralelă, puternic interconectată de polimeri proteici dinamici, "citoscheletul", este un mediu care pare a fi ideal pentru procesarea informațiilor și care este activ implicat în practic toate funcțiile celulare. Aprecierea acestei "dimensiuni citoscheletice" poate fi cheia triunghiului creier/minte/computer (Figura 2.1).

## 2.2. Perspective istorice — Conștiința ca ....

Multe discipline s-au preocupat de încercarea de a înțelege conștiința. La fel ca proverbialul grup de orbi care încearcă să descrie un elefant, percepția fiecărei discipline depinde în mare măsură de orientarea sa și de partea din elefant cu care se întâmplă să intre în contact. Orbii reușesc, în mare parte pentru că au înconjurat elefantul.

Unii cred că mintea este prea complicată pentru a fi descrisă de creierul uman. Poate că misterul minții este o barieră necesară în calea „robotizării" omului? După cum a spus filosoful Richard Rorty: „inefabilitatea mentalului îndeplinește aceeași funcție culturală ca inefabilitatea divinului - sugerează vag că știința nu are ultimul cuvânt" (Jaynes, 1976). În ciuda acestor îngrijorări, au evoluat o serie de teorii și metafore ale minții, care sunt analizate istoric în cartea lui Julian Jaynes, *The Origin of Consciousness and the Breakdown of the Bicameral Mind*. Jaynes descrie opt soluții la problema creier/minte dezvoltate de-a lungul secolului XX. Acestea descriu conștiința ca o proprietate a materiei, a protoplasmei, a învățării, ca o impunere metafizică, ca un spectator neajutorat, ca o proprietate emergentă a evoluției, a comportamentului și ca activitate în cadrul sistemului de activare reticulară a creierului. Acestea sunt revizuite cu modificări și adăugiri relevante pentru tehnologia informatică și dimensiunea citoscheletală.

### 2.2.1 Conștiința ca fizică a undelor/particulelor

Marile descoperiri din fizica particulelor din secolul al XIX-lea au dizolvat soliditatea materiei în simple relații matematice în spațiu. Gândurile, sentimentele, introspecția și interacțiunile dintre minte și mediu erau legate de creier la fel ca undele de electroni. În secolul al XX-lea, biochimistul Albert Szent-Gyorgyi (1960), laureat al Premiului Nobel, a scris "Introduction to a Submolecular Biology" (*Introducere într-o biologie submoleculară)*, în care a perceput că esența vieții și a conștiinței există în mișcarea coordonată a electronilor în cadrul proteinelor semiconductoare. Alții, inclusiv fizicienii ruși Pullman și Pullman (1963) au comparat viața și conștiința cu mobilitatea electronilor în cadrul orbitalelor rezonante ale legăturilor. Biologul scoțian A. G. Cairns-Smith (1985) a teoretizat că viața s-a dezvoltat din cristale de argilă. Structura rețelei moleculare din argilă permite schimbarea relațiilor de vecinătate și prelucrarea informațiilor, ceea ce Cairns-Smith a comparat cu dezvoltarea genetică. Aceste viziuni echivalează procesele de bază ale vieții cu cele ale atomilor și particulelor subatomice. Informația este reprezentată ca modele dinamice de electroni în computere, iar viața și conștiința sunt cu siguranță legate de activitățile particulelor fundamentale. Întrebările sunt cum, unde și la ce nivel de organizare?

### 2.2.2 Conștiința ca proprietate a protoplasmei

Considerând că conștiința este o proprietate fundamentală a tuturor ființelor vii, unii biologi din secolul al XIX-lea au văzut esența acesteia în iritabilitatea celor mai mici organisme unicelulare. Cărțile populare din acea epocă includeau, *The Animal Mind* de M. F. Washburn și *The Psychic Life of Microorganisms* de Alfred Bonet. Observarea unei *amebe* care vânează hrană sau răspunde la diverși stimuli, sau a unui parameci care evită obstacolele sau se conjugă, a dus la aplicarea psihologiei umane la un astfel de comportament. Aceste concepte au fost acceptate de Charles Darwin și E. B. Titchner, care au văzut o astfel de conștiință rudimentară legată de om prin cursul evoluției.

Sprijin circumstanțial pentru această teză se găsește în efectele inhibitorii ale gazelor anestezice generale asupra fluxului protoplasmatic la mucegaiurile de nămol și în inhibarea anestezică a motilității ameboidelor și a parameciilor. Aceasta sugerează o legătură comună între aceste activități ale organismelor primitive și activitățile cerebrale legate de conștiință, în sensul că

toate sunt sensibil reversibil la aceleași molecule de gaz anestezic la concentrații comparabile. Fluxul protoplasmatic, mișcarea ameboidă și motilitatea parameciilor depind toate de activitățile dinamice ale structurilor citoscheletice, inclusiv microtubulii citoplasmatici de tip "computer", tranzițiile actin-sol-gel și apendicele ciliare (Capitolul 5). Legătura citoscheletală dintre procesele sensibile la anestezice ar putea fi o cheie a triunghiului creier/minte/calculator.

Jaynes obiectează la conștiința protoplasmatică, sugerând că oamenii își pot proiecta propriile funcții mentale asupra comportamentului protozoarelor, pe care el consideră că rezidă în întregime în chimia fizică, mai degrabă decât în psihologia introspectivă. Cu toate acestea, psihologia introspectivă în sine este, după toate probabilitățile, o funcție a chimiei fizice la un anumit nivel. Dacă o *amebă*, sau mucegai de nămol, sau parameci nu sunt conștiente, în ce punct din ierarhia evolutivă apare conștiința? Profesorul Karl Pribram (1966) de la Universitatea Stanford, cunoscut pentru conceptualizarea funcțiilor mentale ca fiind "holografice", își amintește că a fost confruntat cu această problemă în timpul unei prelegeri la Institutul Neurologic din Montreal la sfârșitul anilor 1950. Celebrul neuroștiințific Wilder Penfield l-a întrebat pe Pribram dacă diferența dintre om și primatele non-umane a fost cantitativă sau calitativă. Pribram a răspuns că diferența a fost cantitativă, dar într-o asemenea măsură încât au apărut schimbări calitative. El a citat tehnologia computerizată relativ nouă ca exemplu: creșterile vaste ale capacității de memorie și ale procesoarelor centrale au schimbat puterea de calcul nu numai cantitativ, ci și calitativ. Penfield a pledat pentru o distincție mai fundamentală pentru a distinge omul. Pribram a contracarat spunând că, deși singura diferență în structura creierului între om și alte animale este cantitativă, schimbările în organizare, compoziție chimică, secvență de dezvoltare și în timpul și durata perioadelor critice au dus la apariția colectivă a proprietăților calitativ distincte. Legătura comună cantitativă a conștiinței poate fi citoscheletul din celulele, variind de la organisme unicelulare, virusuri, (și, eventual, forme de "viață" mai simple, cum ar fi "prionii" sau structuri proteice independente) până la neuroni în creierul uman. Diferențele calitative par să rezide în proprietățile colective neliniare legate prin evoluție de complexitatea structurală.

## 2.2.3. Conștiința ca învățare

Susținătorii acestui punct de vedere credeau că conștiința a început la un moment dat după evoluția vieții și era direct legată de învățare. Raționamentul era următorul: dacă un animal își modifică comportamentul pe baza experienței, trebuie să aibă o experiență și, prin urmare, trebuie să fie conștient. Prin echivalarea învățării, experienței și conștiinței, această școală a considerat procesele asociative drept elementul esențial al conștiinței.

Modelele de memorie asociativă în simulările pe calculator ale rețelelor neuronale pot fi susținute de glorificarea istorică a învățării în sine, iar învățarea este importantă pentru succesul biologic. Corelațiile structurale ale învățării în creierul mamiferelor (discutate în capitolul 4) par să implice consolidarea unor sinapse specifice, determinată de o reorganizare dinamică a citoscheletului neuronal. Cu toate acestea, după cum observă Jaynes, învățarea și conștiința sunt probleme separate. Sistemele AI pot învăța, dar în mod clar nu sunt conștiente. Informațiile pot fi percepute în conștiința umană, pot exista în memoria pe termen scurt, dar nu pot fi stocate în memoria pe termen lung - prin urmare, nu are loc nicio „învățare”. Anumite medicamente, inclusiv unele anestezice și tranchilizante, blochează în mod specific stocarea și recuperarea memoriei pe termen lung la pacienții conștienți. Astfel, conștiința constituie mai mult decât învățarea.

## 2.2.4. Conștiința ca o impunere metafizică

Evaluarea legăturii evolutive, dar a prăpastiei intelectuale, dintre omul civilizat și maimuțe a dus la o viziune metafizică: conștiința nu ar fi putut evolua pur și simplu prin selecție naturală din ansambluri de molecule și celule. Ceva trebuie să fi fost adăugat din afara sistemului închis pentru a explica o entitate atât de diferită precum conștiința umană. Această școală a fost fondată de Alfred R. Wallace, co-descoperitorul teoriei selecției naturale cu Charles Darwin. Wallace credea că o forță metafizică a dirijat evoluția în trei puncte diferite: începutul vieții, începutul conștiinței și începutul culturii civilizate. Deoarece Wallace a căutat dovezi pentru o forță metafizică în rândul vitaliștilor,

spiritualiștilor și ședințelor de spiritism, el a fost discreditat, iar Darwin a devenit cunoscut drept descoperitorul evoluției.

Unii așa-zișivitaliști și spiritualiști au încercat să aplice fizica particulelor/undelor la ceea ce se știa atunci despre biologia celulară în căutarea conștiinței. Ca și Wallace, ei au fost denigrați pentru că nu aveau dovezi, iar establishmentul științific a considerat că explicarea conștiinței prin impunere metafizică se afla în afara domeniului științei. Teoriile moderne ale câmpului bioelectromagnetic referitoare la embriologie și conștiință au fost propuse de mulți autori, dar rămân nedocumentate. Activitățile dinamice la scară nanometrică în cadrul unui sistem de informații citoscheletale ar putea oferi un astfel de câmp, dar ar putea fi dincolo de detectarea prin tehnologiile actuale. Nanotehnologia viitoare ar putea permite detectarea acestor câmpuri, dacă acestea există. Teoria impunerii metafizice, omologii săi „vitaliști" și fizica particulelor/undelor rămân speculații, dar gradul în care acestea irită establishmentul științific este demn de remarcat. Poate că este pentru că estompează distincția dintre știință, filozofie și religie. Acest lucru poate prevesti o opoziție violentă față de dezvoltarea viitoare a conștiinței artificiale.

## 2.2.5. Teoria Spectatorului Neajutorat

O viziune materialistă a originii conștiinței a apărut ca răspuns la teoria impunerii metafizice. Teoria spectatorului neajutorat sugerează că viața este ca o plimbare în *montagne russe* și că conștiința nu face absolut nimic, fiind un epifenomen al activităților biologice importante. În calitate de spectator neajutorat al evenimentelor cosmice, conștiința a fost descrisă ca fiind

> căldura degajată de fire, culorile așezate pe suprafața unui mozaic, mișcarea unui tren care merge pe șine care i-au determinat destinul, melodia care plutește dintr-o harpă, dar care nu-i poate ciupi coardele, spuma care se revarsă dintr-un râu care nu-și poate schimba cursul, umbra unui pieton (Jaynes, 1976).

Renunțând la liberul arbitru, T. H. Huxley a rezumat sumbru „suntem niște automate conștiente". (Conotația negativă a automatelor ca spectatori neajutorați prevalează în contextul roboților și al mașinilor, însă nu trebuie confundată cu noțiunea de automate celulare care pot procesa independent informații și pot calcula în mod determinist și care au fost comparate cu procesele biologice). Teoria spectatorului neajutorat a fost respinsă de William James, care a considerat de neconceput ideea că conștiința nu ar trebui să aibă nimic de-a face cu activitatea la care participă cu atâta fidelitate. El a întrebat: „de ce conștiința este mai intensă atunci când acțiunea este cea mai ezitantă, de ce suntem cel mai puțin conștienți atunci când facem ceva cel mai obișnuit?"

## 2.2.6 Evoluția emergentă

În această viziune, conștiința a fost salvată de la poziția nedemnă de spectator neajutorat prin reconcilierea viziunii de impunere metafizică cu proprietățile emergente colective. O metaforă folosită a fost: așa cum proprietatea de umiditate nu poate fi derivată doar din proprietățile atomilor de hidrogen și oxigen, tot așa conștiința a apărut la un moment dat în evoluție într-un mod inderivabil din părțile sale componente. John Stewart Mill și alții au sugerat că, așa cum proprietățile materiei au apărut dintr-un precursor nespecificat, proprietățile compușilor complecși au apărut din conjuncția compușilor mai simpli, iar proprietățile specifice ale ființelor vii au apărut din conjuncția acestor compuși complecși și, în cele din urmă, conștiința a apărut din aceste ființe vii (Jaynes, 1976). Astfel, s-a considerat că o schelă de noi conjuncții a dus la relații nevăzute anterior, aducând noi fenomene emergente. Coalizându-se ca ceva cu adevărat nou într-un stadiu critic al evoluției, conștiința a preluat conducerea asupra cursului evenimentelor din creier și eficacitatea cauzală în comportamentul corporal. În unele privințe, această viziune este ca „trucul indian al funiei" în care fakirul aruncă o funie în aer unde aceasta rămâne în mod misterios, apoi se urcă pe funie, o trage după el și dispare. Este posibil ca procesele evolutive să fi asigurat dezvoltarea și existența conștiinței, care a preluat apoi controlul și ghidarea sistemelor biologice.

Condițiile care duc la apariția conștiinței pot fi văzute ca o emergență neliniară din evenimentele evoluționiste.

Teoria evoluției emergente i-a eliberat pe biologi și neuroștiințiști de povara de a-și baza toate rezultatele pe proprietăți fizice cunoscute. Mintea putea fi astfel tratată într-un sens subiectiv, permițând psihiatriei și teoriei freudiene să devină acceptabile fără o bază concretă pentru concepte precum *ego*, *id* și *superego*. Întrebări semnificative care au apărut apoi au inclus: Când a apărut conștiința? Unde? În ce specii? Și ce era? Dualitatea creier/minte încă exista și, de fapt, mintea a fost tratată doar în generalități largi și nebuloase.

## 2.2.7. Behaviorism

Problema conștiinței ar putea fi rezolvată prin ignorarea ei. Behavioriștii  își trag rădăcinile de la așa-numiții epicurieni din secolul al XVIII-lea și, înainte de aceasta, de la încercările de a generaliza tropismele plantelor la acțiunile animalelor și ale omului. Behavioriștii explicau toate procesele cognitive pe baza reflexelor și a răspunsurilor condiționate, care erau comparabile între mari varietăți de organisme. Astfel, comportamentul uman, indiferent cât de nobil sau furtiv, putea fi explicat prin răspunsuri reflexe la anumite situații sau nevoi de a satisface funcții corporale. Behaviorismul se preta foarte ușor experimentelor și a fost un avantaj pentru credibilitatea oamenilor de știință care studiau mintea. Laboratoarele behavioriste au înflorit în universitățile din întreaga lume; labirinturile cu șobolani și răspunsurile condiționate au devenit paradigme operante. Behavioriștii au fost capabili să atragă posturi universitare, fonduri nerambursabile, iar laboratoarele behavioriste au dominat neuroștiința pentru o perioadă semnificativă de timp. Eșecul behaviorismului constă în faptul că este mai degrabă o metodă decât o teorie și este evident ipocrit în negarea sau ignorarea conștiinței. Cu toate acestea, behaviorismul a epurat psihologia pentru a o plasa direct în curentul principal al științei academice.

## 2.2.8. Conștiința ca activitate dinamică a sistemului de activare reticulară a creierului

Pe măsură ce tehnologia a accelerat, teoreticienii creierului și ai minții s-au întors în cele din urmă la creier - ”țesutul minune” de trei kilograme și jumătate de culoare gri-rozalie. Matematicianul-filosof Rene Descartes, care a definit dualitatea creier/minte prin afirmația sa „*cogito, ergo sum*” (gândesc, deci exist), a ales glanda pineală a creierului ca loc al conștiinței. Alegerea sa s-a bazat parțial pe faptul că glanda pineală este o structură unică, situată pe linia mediană. Astfel, spre deosebire de aproape toate celelalte regiuni ale creierului, aceasta nu avea dubluri și, prin urmare, a fost considerată esențială. Propunerea lui Descartes a fost ușor respinsă de neurofiziologi, dar a dat startul căutării unui singur loc al conștiinței cerebrale. Deoarece mulți cercetători au considerat creierul/mintea ca fiind un aranjament ierarhic al procesării informațiilor, concluzia logică a fost că la un anumit loc sau regiune toate informațiile au fost recunoscute și asimilate de „ochiul minții”, locul conștiinței, neuronul bunicului sau o altă manifestare a unui vârf ierarhic. Recent, s-a constatat că cea mai mare parte a creierului este implicată în fișiere paralele ample („distribuite”) de informații, memorie și cunoaștere. Cu toate acestea, din punct de vedere istoric, mulți lucrători s-au concentrat asupra *sistemului de activare reticulară* (RAS) ca substrat neural al conștiinței.

Menținerea stării de conștiență depinde într-o mare măsură de RAS, o încâlceală organizată de neuroni mici interconectați, care se întinde din partea superioară a măduvei spinării prin trunchiul cerebral până în talamus și hipotalamus. RAS integrează colaterale de la nervii senzoriali și motori, are legături directe cu o jumătate de duzină de zone majore ale cortexului și probabil cu toate nucleele trunchiului cerebral și trimite fibre în josul măduvei spinării, unde influențează sistemele senzoriale și motorii periferice. Funcția sa este de a sensibiliza sau trezi anumiți neuroni și centri nervoși și de a-i desensibiliza pe ceilalți, astfel încât să poată regla activitatea și starea de veghe a întregului creier. Se consideră că medicamentele de inducție anestezică, cum ar fi tiopentalul de sodiu, își exercită efectele în mare măsură asupra RAS. Leziunile distructive ale acestei zone produc, de asemenea, somn permanent și comă, iar stimularea electrică a RAS poate

trezi un animal adormit. De asemenea, RAS poate regla activitatea majorității celorlalte părți ale creierului prin excitabilitatea sa electrică internă și prin neurochimie.

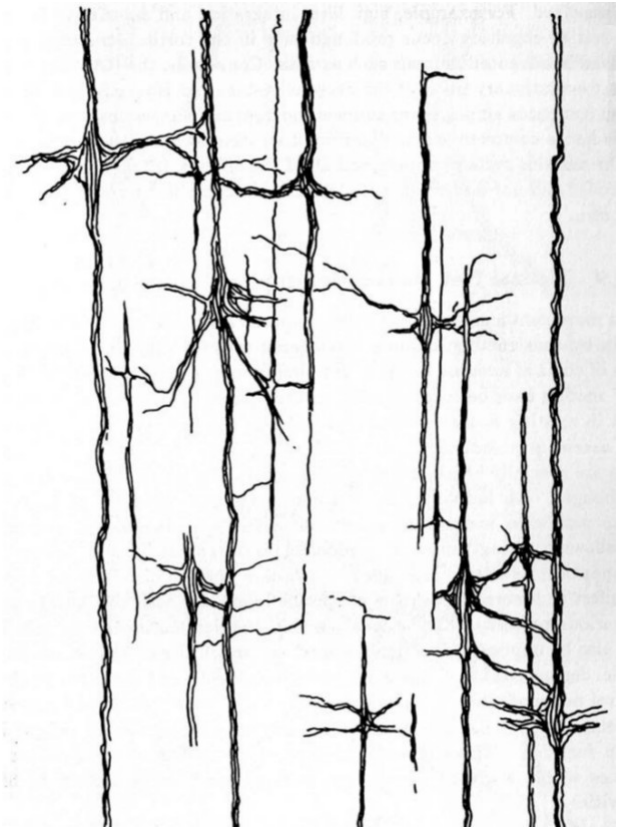

*Fig. 2.2: Un grup de neuroni asociați, cum ar fi celulele piramidale corticale cerebrale. Axonii și dendritele lungi care se extind din corpurile celulare sunt de ,ordinul a câțiva microni (mii de nanometri) grosime. Unele conexiuni sinaptice laterale sunt evidente. De Jamie Bowman Hameroff.*

Deși RAS reglează starea de veghe, enigmele conștiinței rămân nerezolvate. De exemplu, integrarea la nivel înalt și funcțiile asociative implicite pentru cunoaștere apar predominant în cortex, structural mai evoluat la animalele avansate precum omul. În schimb, RAS este una dintre cele mai vechi părți evolutive ale sistemului nervos și este relativ neschimbată atunci când este comparată între animalele inferioare și oameni. Jaynes observă că, chiar dacă am avea o schemă electrică completă, dacă am fi conștienți de fiecare transmițător din sistemul nervos, dacă am înțelege toate miliardele sau trilioanele de sinapse, tot nu am putea discerne că un anumit creier conține o conștiință ca a noastră.

## 2.2.9. Conexionismul rețelei neurale

Această mișcare a fost consolidată de eforturile informaticienilor de a imita creierul prin construirea de sisteme de inteligență artificială. Pe baza aproximării neuronilor corticali ca unități cu prag liniar, au fost construite și simulate pe calculator un număr mare de modele de "rețele neuronale". Un concept-cheie în corelarea dinamicii rețelelor neuronale cu faptele psihologice este ansamblul celular introdus de Donald Hebb în 1949. În viziunea sa, ansamblurile celulare sunt circuite reverberatoare special organizate care constituie elemente ale gândirii. Un neuron individual poate participa la multe dintre ele, la fel cum un membru individual al societății participă la multe ansambluri sociale. Permițând consolidarea sau întărirea conexiunilor utilizate în mod repetat ("plasticitate sinaptică"), recunoașterea, învățarea și rezolvarea problemelor se manifestă prin praguri coborâte ale buclelor specifice. Prin atribuirea de niveluri de energie diferitelor modele ("peisaje") din cadrul rețelei, se pot impune, de asemenea, soluții matematice. "Inteligența" sau capacitățile unui anumit model de rețea neuronală depind de bogăția interconexiunilor sale și de feedback-ul neliniar. Teoria conexionistă a rețelelor neuronale poate contribui la progresul

sistemelor robotice și informatice pentru inteligența artificială și poate oferi o perspectivă semnificativă asupra funcționării creierului. Aceste teorii au furnizat dovezi că activitățile dinamice dintr-o anumită rețea pot imita cel puțin unele aspecte ale activităților cerebrale.

Deficiențele primelor modele de rețele neuronale constau în faptul că acestea se bazau pe neuroni ipotetici, cu presupuneri enorme cu privire la funcția neuronală. Fiecare neuron a fost considerat o poartă sau un comutator pornit/oprit, iar sinapsele interneuronilor au fost considerate interconexiuni cu greutate variabilă. Modelele mai recente includ impulsuri axonale, întârzieri sinaptice, funcții analogice dendritice și coerență spațială. În forma lor cea mai elegantă, teoriile rețelelor neuronale oferă reprezentări posibile ale obiectelor mentale („conștiință”?) în modelele instantanee tranzitorii ale activității rețelei. Lucrările lui Hebb, Kohonen, Edelman, Thorn, von der Malsburg, Hopfield, Pellionisz, Llinas, Changeux și alții sugerează că „cuplarea cooperativă stabilă în timp” între seturi de neuroni poate manifesta gânduri și imagini. Unele dintre lucrările lor sugerează că creierul formează seturi de „prereprezentări” a ceea ce este de așteptat, din care intrările senzoriale induc „selectarea” candidatului său la realitate. În acest context, Changeux (1985) a definit conștiința ca „un fel de sistem global de reglementare care se ocupă de obiectele mentale și de calculul care utilizează aceste obiecte”. Modelele de rețele neuronale și memoriile asociative au avansat semnificativ înțelegerea capacităților neuronale colective. Caracteristicile lor esențiale (procesoare paralele cu conexiuni laterale variabile) pot funcționa și în neuronii din citoschelet.

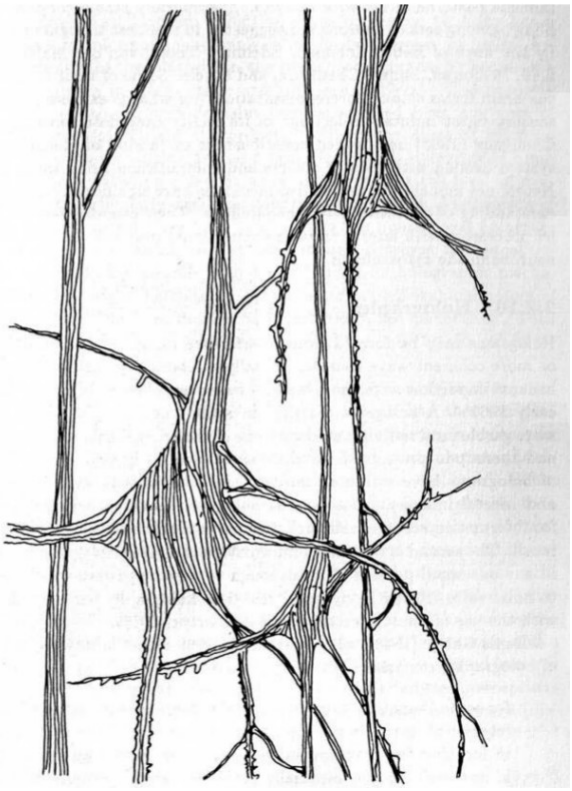

*Fig. 2.3: Vedere mai apropiată a neuronilor cu citoscheletul intraneuronal vizibil. Dendritele, care urcă de jos în corpurile celulare, au numeroși pini dendritici. Sunt reprezentate mai multe sinapse. De Jamie Bowman Hameroff.*

2.2.10. Holografie

Hologramele pot fi formate din modele de interferență generate de două sau mai multe surse de unde coerente. Inițial o curiozitate de laborator, holografia a devenit importantă odată cu apariția laserelor ca surse coerente de lumină la începutul anilor 1960. O hologramă înregistrată pe o placă fotografică pare a fi o simplă confuzie până când este iluminată din nou cu una dintre sursele originale de unde coerente și proiectează imagini spațiale tridimensionale. Două proprietăți ale hologramelor au atras interesul și comparațiile cu conștiința și imaginile mentale. Prima este că

holoramele au o capacitate enormă de stocare a informațiilor, deși sunt necesare unde coerente de referință pentru reamintire. A doua este aceea că multe informații dintr-o hologramă dată sunt conținute într-o porțiune mică a acesteia, cu toate că rezoluția și raportul semnal/zgomot sunt reduse. Recent, a fost dezvoltată holografia dinamică în timp real cu utilizarea cristalelor fotorefractive (Gower, 1985).

Denis Gabor (1948), care a primit premiul Nobel în 1969 pentru inventarea holografiei, a remarcat:

> de câțiva ani, această proprietate a holoramelor a atras interesul neurofiziologilor care erau nedumeriți de dificultatea de a localiza „engrama”[1] în memoria umană sau animală. După cum se știe acum, mai ales de la celebrele experimente ale lui Lashley, părți mari din creier pot fi uneori distruse fără a șterge un model de comportament învățat. Acest lucru a condus la speculații conform cărora creierul ar putea conține un mecanism holografic.

Totuși, Gabor era sceptic cu privire la „existența undelor sau a rezonatorilor acordați în creier”. Mantaua teoriei creierului holografic a fost preluată de Karl Pribram de la Stanford (1986), care a susținut că creierul percepe informațiile senzoriale prin analiza interferenței frecvențelor de ardere neuronală. Potrivit lui Pribram, în creier rezultă un domeniu holografic în care spațiul și timpul sunt înglobate. În consecință, transformările în domenii obișnuite pot fi realizate din orice parte a înregistrărilor codificate. Aceasta este proprietatea de distribuire a informației care caracterizează holoramele și funcțiile creierului. Modelele holografice ale creierului s-au bazat pe interferența coerentă a undelor la nivelul activităților neuronale, în special pe interacțiunile dendritice-dendritice. Verificarea coerenței între neuroni a lipsit, iar hologrma la nivel neuronal rămâne doar un model matematic interesant. Cu toate acestea, citoscheletul din interiorul neuronilor (și al tuturor celulelor) poate fi potrivit pentru mecanismele holografice datorită coerenței sale spațiale (de exemplu, periodicitatea de 8 nanometri) și a potențialului de cuplare temporală (oscilații coerente de o nanosecundă, a se vedea capitolul 6). Astfel, citoplasma intracelulară din jurul citoscheletului poate fi substratul conștiinței holografice.

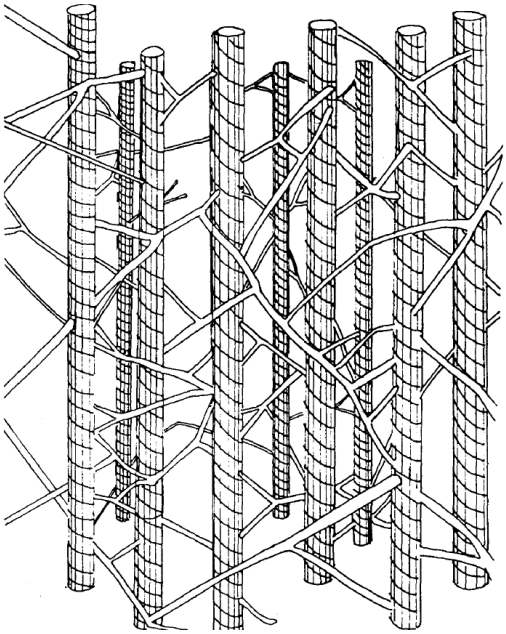

*Fig. 2.4: Interiorul unui neuron care prezintă rețeaua citoscheletală. Cilindrii drepți sunt microtubuli, cu diametrul de 25 nanometri. Interconexiunile ramificate sunt filamente de rețea microtrabeculară. Neurofilamentele nu sunt reprezentate. De Jamie Bowman Hameroff.*

1 Engrama este urma biologică lăsată de activitatea unui excitant extern în creier.

Conceptul holografic de conştiinţă are implicaţii psihofizice (Weber, 1975). Fizicianul David Bohm a observat că percepţia noastră asupra realităţii este condiţionată de lentile (ochi, camere, microscoape etc.) care focalizează, obiectivizează, formează limite şi particularizează. Hologramele fără lentile sunt distribuite, nu au limite şi sunt „holistice”. Bohm sugerează că realitatea universului este similară din punct de vedere matematic cu o hologramă (domeniul „implicat”), care se ocupă de domeniul frecvenţei şi de proprietăţile fluctuante ale formelor de undă, spre deosebire de impresiile noastre Euclidiene-Newtoniene condiţionate de lentile. Această abordare pare în concordanţă cu opiniile fizicii moderne privind dualitatea undă/particulă şi principiul incertitudinii. Experienţele raportate de mistici, schizofrenici şi experimentatori de droguri halucinogene descriu pierderea limitelor spaţiale şi temporale şi o caracteristică holografică („fractală”) a întregului reprezentat în fiecare parte. Se poate discuta dacă percepţiile mistice/schizoide/induse de droguri sunt aberaţii sau realitate clarificată, dar anumite proprietăţi ale hologramelor (distribuţia informaţiilor, capacitatea vastă de stocare, imaginile spaţiale tridimensionale) seamănă într-o oarecare măsură cu conştiinţa.

Abordările clasice pentru înţelegerea creierului/minţii au presupus o ierarhie a organizării în care sinapsele interneuronale sunt substraturile indivizibile ale transferului de informaţii (Figura 2.2). Cu toate acestea, neuronii par mult prea complecşi pentru a fi simple comutatoare sau porţi digitale şi trebuie să conţină sisteme intrinseci de procesare a informaţiilor. Neuronul este adesea şi în mod eronat descris ca un dispozitiv simplu care compară o sumă ponderată a semnalelor de intrare "analogice" dendritice cu un anumit nivel prag peste care un impuls "digital" de ieşire este transmis de-a lungul unui axon. Structura neuronilor, în care arborizări vaste de fibre dendritice pot accepta aproximativ 100.000 de intrări sinaptice per neuron, indică un sistem foarte complex. În timp ce unii au considerat arborele dendritice ca fiind un transmiţător pasiv de impulsuri, datele sugerează potenţiale de acţiune în dendritele mari, unde depolarizare lente în altele, şi posibilitatea unor operaţii logice elementare la punctele de ramificaţie (Scott, 1977). Fiecare punct de ramificaţie dendritică poate acţiona ca o poartă logică "SAU" dacă un impuls pe oricare dintre ramurile fiice poate furniza suficientă sarcină pentru a excita un impuls pe cea părinte; altfel, poate acţiona ca un "ŞI" logic. Dendritele pot transmite, de asemenea, informaţii presinaptice către alţi neuroni prin potenţiale gradate la sinapsele dendro-dendritice, un proces numit "şoptire împreună" (Adey, 1977). Extinderea şi importanţa căilor de curent "electrotonic" dintre glicoproteinele membranei dendritice, peticele de membrană şi spinele dendritice sunt necunoscute, dar ar putea fi, de asemenea, importante. Suma netă a potenţialelor dendritice din cortexul cerebral este înregistrată la nivelul scalpului sub formă de electroencefalografie (EEG). Pe partea axonală sau de ieşire, fibrele părinte nu excită neapărat toate fiicele la fiecare punct de ramificaţie, iar punctele de ramificaţie ale unor axoni conţin regiuni unde pot apărea filtrarea de înaltă frecvenţă, arderea alternativă şi alte forme de procesare a informaţiilor (Scott, 1977). Conductanţa punctului de ramificaţie poate fi influenţată de modificări mici ale geometriei locale şi cuplării electrice, oferind astfel o reglementare intraneurală a transmiterii neuronale. Compoziţia membranelor, distribuţia spaţială a glicoproteinelor, canalele ionice, golurile de mielină ("nodurile Ranvier") şi agregarea receptorilor au fost, de asemenea, considerate codificare informaţională. Toate modurile potenţiale de procesare a informaţiilor neuronale (plasticitatea sinaptică, morfologia axonilor şi a dendritelor, distribuţia proteinelor membranare) depind de funcţiile citoscheletale dinamice ale transportului axoplasmic şi trofismului (Capitolul 5).

Complexitatea neuronului poate fi într-adevăr mai asemănătoare unui computer decât unei singure porţi. Dar care sunt porţile? Care este substratul indivizibil al funcţiei neuronale? Unde este neuronul neuronului? Cum realizează o *amibă* sau un Paramecium sarcini complexe fără beneficiul unei sinapse, neuron sau creier? Relativ recent, odată cu perfecţionarea fixării microscopice electronice, a imunofluorescenţei şi a altor tehnici, interiorul celulelor vii a fost dezvăluit. S-a demonstrat că posedă reţele complexe, extrem de paralele, interconectate, de reţele de proteine cito-scheletice care se conectează la şi reglementează membranele şi toate celelalte componente celulare. Structura acestor polimeri proteici, activităţile lor dinamice şi lipsa unei înţelegeri alternative clare a cunoaşterii au dus la luarea în considerare teoretică a activităţilor cito-scheletice

dinamice ca moduri funcționale de procesare a informațiilor, cum ar fi automatele celulare și hologramele.

Această viziune cito-scheletică, dezvoltată în detaliu mai târziu în această carte, este în concordanță cu multe dintre școlile anterioare de înțelegere a conștiinței. Din perspectiva cito-scheletică, conștiința este o proprietate a protoplasmei (specific legată de proteinele cito-scheletice), dar varietatea de vertebrate a conștiinței este un efect colectiv neliniar - o evoluție emergentă - a ceea ce există în organisme simple. Un salt neliniar timpuriu în evoluția conștiinței poate fi avut loc cu introducerea centriolilor și microtubulilor cito-scheletici și transformarea concomitentă a celulelor procariote în celule eucariote acum aproximativ un miliard de ani (Capitolul 3). Poate că, pe măsură ce rețelele cito-scheletice și nivelurile superioare de organizare, cum ar fi rețelele neuronale, au atins o complexitate suficientă în creierul mamiferelor, proprietățile colective au apărut neliniar din cauza cooperării, rezonanței, tranzițiilor de fază și a fenomenelor coerente, permițând automate, holografie sau un alt mecanism de procesare a informațiilor. Teoria rețelei neuronale, paralelismul, conexiunea și abordarea AI a conștiinței au oferit iluminare cu privire la creier / minte. Multe dintre aceste abordări pot fi aplicate la cito-schelet, o subdimensiune fractală a rețelelor neuronale (Figurile 2.3 și 2.4). Nivelurile de conexiuni ale rețelei neuronale, cum ar fi sistemul reticular activator sau circuitele hipocampice, pot depinde de dinamica intracelulară cito-scheletică pentru reglarea lor. De exemplu, învățarea în teoriile rețelei neuronale se bazează pe sugestia lui Donald Hebb (1949) conform căreia circuitele de neuroni conectați dezvoltă sinapse mai conductive care facilitează activarea acelui circuit. Se crede că arderea de-a lungul anumitor modele, urmând un anumit stimul, reprezintă un anumit concept, gând sau memorie - informație. Apoi, se crede că învățarea are loc prin consolidarea sau fixarea conexiunilor sinaptice sau formarea de noi sinapse de-a lungul anumitor modele de rețea neurală. Forța sinaptică și conexiunea neuronală depind de rearanjamentele cito-scheletice intracelulare și de transportul axoplasmic pentru a menține eficacitatea sinaptică și pentru a forma noi sinapse și spini dendritici. Ingredientele pentru sinapse, proteine membranare, receptori, canale ionice, enzime și aparatul pentru mecanismele de eliberare a neurotransmițătorilor sunt sintetizate în corpurile celulare și transportate la sinapse pe distanțe relativ mari prin transport axoplasmic, un efort coordonat al microtubulilor cito-scheletici. Modularea sinaptică poate reprezenta un mecanism prin care straturile dinamice separate într-o ierarhie a informațiilor comunică și se „acordează” reciproc.

O duzină de modele de procesare a informațiilor cito-scheletice au fost publicate și vor fi revizuite în capitolul 8. Activitățile la scară nanometrică din rețelele cito-scheletice pot oferi o punte de legătură viitoare între conștiință și nanotehnologia emergentă. La fel de complexe și foarte conectate pe măsură ce sunt ramurile neuronale (adică arborii dendritici cito-scheletul din toți neuronii poate fi *o pădure în interiorul acelor arbori*.

# 3. Originea și evoluția vieții

## 3.1. Supă versus noroi, pui versus ou

Ce este viața? Organismele vii au anumite proprietăți care sunt aproape sinonime cu trăsătura de a fi viu - organizare, creștere, reproducere, activități dinamice cu scop și (cel puțin la organismele superioare) inteligență și conștiință. Formele de viață pe care am ajuns să le cunoaștem se bazează toate pe același tip de schițe genetice (ADN, ARN) și de elemente de construcție (proteine), ceea ce sugerează un strămoș comun. Acest strămoș, apariția vieții, este considerată, în general, ca o rearanjare a materiei cosmice produse inițial în "Big Bang", care se presupune că a dat naștere universului acum aproximativ 14 miliarde de ani. Apariția moleculară a vieții poate fi privită în contextul a două întrebări fundamentale privind locul de origine ("supă vs. noroi") și cauza și efectul molecular ("oul vs. găina").

În anii 1920, biochimistul rus A. I. Oparin (1938) și biologul britanic J. B. S. Haldane (1947) au descris conceptul lor de „supă primordială” de molecule organice existente în oceanele Pământului cu doar 4 miliarde de ani în urmă. Se credea că supa lor era un produs al proceselor geochimice și al surselor de energie care acționau într-o atmosferă de gaze neoxidate, cum ar fi metanul, amoniacul și hidrogenul, similar cu ceea ce există în prezent pe Jupiter. Această atmosferă primordială a fost opinia eminentului chimist Harold Urey (1939), al cărui student absolvent Stanley L. Miller a efectuat un experiment cheie la începutul anilor 1950. Miller a creat un mediu închis care conținea o astfel de atmosferă primitivă și a trecut scântei electrice simulând fulgerele prin ea. A detectat molecule organice relevante pentru procesele de viață. Cincisprezece la sută din carbonul metanului original a fost găsit în molecule care includeau patru aminoacizi, elementele constitutive ale proteinelor. Miller a găsit, de asemenea, precursori de ADN și zaharuri de riboză din care se formează ARN. Deoarece cele mai centrale molecule ale vieții sunt identice la toate organismele de pe pământ, supa primordială a lui Miller a fost considerată a reprezenta condițiile din care a apărut viața. Alte cercetări au pus sub semnul întrebării atmosfera bogată în hidrogen pe care Urey și Miller și-au bazat experimentul și, de asemenea, alte lucrări au arătat că cel puțin unii precursori organici ai vieții pot fi generați în multe tipuri de atmosfere.

Există și alți candidați pentru locul de origine al vieții. Se crede că condițiile de deasupra ventelor termice descoperite recent pe fundul oceanului sunt propice formării compușilor organici, ceea ce îi determină pe unii să propună aceste puncte, mai degrabă decât iazurile sau bălțile mareice imaginate în mod tradițional, ca leagăn al vieții („supa adâncă”). Ventele termice sunt acasă la forme de viață stranii și exotice, cum ar fi viermii uriași de tub care prosperă în presiunile mari ale oceanului adânc. Compușii organici au fost, de asemenea, găsiți în mod obișnuit în praful interstelar, în comete și în meteoriții care cad pe pământ. Mulți cred că rezervele de precursori organici ai vieții au fost sporite din spațiu, în timp ce puțini admit că celulele primitive au fost transplantate pe Pământ din spațiu.

O explicație alternativă a fost avansată de A. Graham Cairns-Smith (1982) de la Universitatea din Glasgow, care sugerează că primele organisme au utilizat modele de informații preexistente sub formă de cristale de argilă umedă („noroi”). Materialele anorganice cristaline par să aibă multe proprietăți „asemănătoare vieții”, cum ar fi capacitatea de a stoca și reproduce informații sub formă de defecte cristaline, dislocări, limite gemene și substituții. Mineralele argiloase precum caolinitul cristalizează la temperaturi obișnuite din soluții apoase de roci comune. Suprafețele lor catalitice și morfologia complexă i-au sugerat lui Cairns-Smith un mediu asemănător cu cel al materialului viu. Acesta a observat că defectele din cristale pot furniza configurații alternative multiple și stabile care pot stoca și procesa informații, asemănătoare computerelor moderne. Defectele cristalelor care se pot mișca sunt foarte asemănătoare cu automatele celulare primitive, modele dinamice care apar în vecinătăți de rețele capabile de calcul. Cairns-Smith a presupus că anumite argile au proliferat, defectele lor de replicare (reprezentând informații) acționând ca informații genetice primordiale și dovedindu-se utile în alinierea aminoacizilor și sinteza proteinelor. Pe măsură ce s-a dezvoltat o sinteză organică mai eficientă, Cairns-Smith

susține că mașinăria argilei a devenit inutilă și a fost abandonată în favoarea unei noi biotehnologii - ADN și ARN.

Indiferent dacă teoria argilei a lui Cairns-Smith este corectă sau nu, el demonstrează capacitatea de stocare a informațiilor în defectele cristaline. Cristalele perfect ordonate, repetitive și omogene nu au capacitate de stocare a informațiilor, dar sunt, de asemenea, extrem de rare sau nu există deloc. Cristalele reale au structuri defectuoase suprapuse. Pur și simplu faptul de a fi finit - de a avea o formă și o dimensiune - este un defect, dar multe alte caracteristici sunt aproape invariabil prezente. Unitățile lipsesc adesea sau sunt înlocuite de altele, iar secțiuni din structura cristalină pot fi nealiniate în diverse moduri. Deși astfel de caracteristici pot fi la scară foarte mică, ele oferă cristalelor reale o capacitate potențială mare de informații. Anumite clase de cristale ar putea avea structuri defecte care se reproduc pe măsură ce cristalul crește, având combinația potrivită de caracteristici structurale, modele de creștere și proprietăți de clivare. Cairns-Smith (1982) concluzionează prin lansarea unei provocări pentru descoperirea genelor cristaline ale diferitelor materiale. El întreabă:

> ... Imaginați-vă că faceți experimente cu cristale care ar putea evolua, punându-le probleme - aplicând presiuni de selecție - și observând cum se descurcă. Acesta ar fi un lucru interesant de făcut oricum, indiferent din ce sunt făcute cristalele. Am afla curând dacă versiunile minerale ale sistemelor de replicare sunt plauzibile, deși am putea pierde interesul pentru strămoșii noștri finali odată ce am avea în mâini primele organisme de altă natură: primele organisme create de noi înșine.

Implicațiile ideilor lui Cairns-Smith includ posibilitatea unor forme de viață alternative din structuri cristaline propagatoare și o sugestie că ADN-ul și ARN-ul nu sunt neapărat singurii purtători de informații genetice. Acest lucru este în acord cu o demistificare a vieții în general. La o întâlnire internațională privind originile vieții (Eckholm, 1986), Dr. Cyril Ponnamperuma de la Universitatea din Maryland a sugerat "diviziunea dintre viață și non-viață este poate una artificială." El consideră animat și inanimat ca fiind pe un continuum atât în timp evolutiv, cât și între sistemele existente în prezent. Pe o astfel de scară, prioni, proteinoizi și unii viruși s-ar afla aproape de mijloc, la fel ca și o protocelul antică necunoscută care a devenit strămoșul vieții pe pământ. A vorbi despre chimie avansată mai degrabă decât despre creație divină este sigur că va deranja fundamentaliștii religioși. Echivalarea vieții cu oscilații în cristale are o rezonanță aproape biblică și reduce decalajul conceptual dintre moleculele de viață și dispozitivele tehnologice.

Indiferent de mediul precis în care au apărut moleculele legate de viață, alte întrebări majore includ dacă purtătorii informației genetice, ADN-ul și ARN-ul, au precedat proteinele ale căror secvențe de aminoacizi le determină, sau dacă proteinele, inclusiv enzimele și elementele structurale aparent necesare pentru replicarea genetică, au apărut primele. Astfel, s-a dezvoltat o dilemă de tipul găină (ADN, ARN) vs. ou (proteină) în ceea ce privește originile vieții. Un flux primar de informații de la acidul nucleic la proteină (găina înaintea oului) a fost o "dogmă centrală" în biologia moleculară. Fox și Dose (1972) au contestat această convingere prin propunerea unui continuum evolutiv alternativ de la începutul cosmosului material la primele organisme. În viziunea lor de "ou înainte de găină", secvența organizării vieții a fost de la gaze interstelare, la aminoacizi, la polimeri, la microsisteme organizate. Ca dovadă, ei citează autoorganizarea aminoacizilor și a proteinelor în microsfere "proteinoide" care pot stabili legături de comunicare și pot îndeplini alte funcții "asemănătoare vieții". Dovezi pentru o viziune de "găină înainte de ou" au fost găsite de chimistul Leslie Orgel și colegii săi (Schwarz și Orgel, 1985) de la Institutul Salk din La Jolla, California. Aceștia au descoperit recent o moleculă asemănătoare ADN-ului, lungă de 15 nucleotide, care s-a format spontan din compuși de carbon mult mai simpli și zinc în absența celulelor vii sau a enzimelor proteice. Alte lucrări au sugerat că ARN-ul poate funcționa enzimatic pentru a facilita reacțiile, iar majoritatea descoperirilor recente înclină spre primatul acizilor nucleici.

Manfred Eigen (1971) consideră această problemă cauză/efect ca o "buclă închisă" al cărei punct de plecare inițial este lipsit de importanță. Ceea ce este important, în viziunea lui Eigen, este modul în care are loc autoorganizarea moleculară din evenimente aleatorii și feedback care duc la organizare funcțională macroscopică, autoreproducere, selecție și evoluție: "hipercicluri". În cele din urmă, potrivit lui Eigen, astfel de sisteme pot scăpa de precondițiile originii lor și pot schimba mediul în avantajul lor.

O viziune a organizării primare a acidului nucleic (găina) într-un mediu apos primordial (supă) este rezumată și elaborată în scrierile biologilor Lynn Margulis și Dorion Sagan (1986). Ei consideră logice faptele că ARN-ul și ADN-ul s-au format spontan în mările puțin adânci ale pământului timpuriu și au devenit, de asemenea, capabile să se autoreplice în copii perfecte ale lor. Ei asemuiesc moleculele de ARN cu jumătate dintr-un fermoar deschis. Cu ingredientele complementare adecvate, cealaltă jumătate se formează folosind ARN-ul existent ca șablon.

Margulis și Sagan (1986) notează:

> O moleculă de ARN poate face mai mult decât să se copieze singură. Secvența nucleotidelor sale poate servi, de asemenea, drept semnal pentru ca un lanț vecin de ARN să atașeze aminoacizii din mediul său, formând astfel o parte a unei proteine care, la rândul său, va accelera potrivirea altor molecule de ARN, producând mai mult ARN, mai multe fragmente asemănătoare proteinelor și așa mai departe.

Acest lucru sugerează că, la un nivel critic al evoluției, au apărut accelerații neliniare datorită nivelului de interrelații asociative dintre moleculele în evoluție. Acest lucru poate ajuta la explicarea modului în care sistemele biologice pot produce „ordine din haos”, încălcând astfel aparent a doua lege a termodinamicii, care afirmă că sistemele ordonate trebuie să se disipeze spre dezordine.

Margulis și Sagan descriu următorul scenariu pentru dezvoltarea vieții pe Pământ. Formarea ARN-ului în supa primordială a condus la evoluția ADN-ului cu două catene, eoni mai târziu. Aceasta, la rândul său, a permis apariția întregii varietăți a vieții - așa cum se manifestă în bogăția de structuri și funcții ale proteinelor și ale altor macromolecule. Supraviețuirea a fost sporită prin închiderea moleculelor dinamice în membrane, formate aparent atunci când hidrocarburile fosfolipidice s-au aliniat și, deoarece erau încărcate la un capăt, au format picături sferice care au sechestrat biomoleculele. Odată cu apariția canalelor ionice și a altor proteine membranare au apărut tensiunile de reglare și un microcosmos discret: celula bacteriană „procariotă”.

## 3.2. De la procariote la eucariote - salt simbiotic

Proliferarea procariotelor a schimbat literalmente fața pământului. Conform scenariului Margulis/Sagan, echipe colective de bacterii au adunat substanțe nutritive, au eliminat toxinele, au reciclat materia organică prin transformarea deșeurilor în alimente și au stabilizat atmosfera. Bacteriile procariote au produs amoniac, care a ajustat aciditatea oceanelor și a lagunelor și a crescut temperatura Pământului printr-un efect de "seră" similar cu cel al dioxidului de carbon (care lasă să intre mai multă radiație solară decât poate scăpa). În urmă cu aproximativ două miliarde de ani, bacteriile fotosintetice purpurii și verzi au început să utilizeze apa pentru a produce compuși bogați în hidrogen, emițând oxigen care era otrăvitor pentru majoritatea procariotelor ("anaerobe"). Această "criză a deșeurilor toxice" a impus adaptări, inclusiv sisteme de motilitate pentru a scăpa de expunerea la oxigen, detoxifiere și, în cele din urmă, respirație cu oxigen. Primele bacterii procariote "aerobe" rezultate au înflorit timp de câteva sute de milioane de ani, dar, pe măsură ce oxigenul atmosferic a crescut, bacteriile aerobe și anaerobe au dat naștere unei noi forme de viață îmbunătățite, celula eucariotă sau nucleată.

Suntem cu toții eucariote, la fel ca toate animalele și aproape toate plantele existente pe Pământ astăzi. Celulele eucariote diferă de strămoșii lor procariote prin faptul că au interioare celulare organizate (citoplasmă sau protoplasmă), inclusiv compartimente separate, închise de membrană (nuclei) care conțin, printre alte structuri, cromozomi: biblioteci de ADN și proteinele lor

de susținere. Citoplasma eucariotă conține de obicei mitocondrii, fabrici de energie chimică care utilizează oxigen pentru a genera ATP pentru a alimenta activitățile celulare (respirație) și, în cadrul plantelor verzi, cloroplaste care transformă energia solară în alimente cu energie chimică (fotosinteză). Celulele eucariote sunt enorm de sofisticate în comparație cu predecesorii lor procariote. Înregistrările fosile indică faptul că eucariotele au apărut brusc, fără o formă intermediară aparentă care ar indica mutații genetice progresive de la procariote. Această lacună evolutivă, care separă bacteriile și algele albastre-verzi de toate celelalte forme de viață celulară actuale, este o dichotomie misterioasă, o prăpastie evolutivă. Explicațiile bazate pe simbioză - o asociere reciproc avantajoasă - au fost avansate de Marishkowski în 1905 și Wallen în 1922 (Margulis și Sagan, 1986). Aceștia au propus că celulele eucariote au rezultat dintr-o asociere simbiotică a două tipuri de procariote - un "monera" primitiv și o bacterie de tip cocci mai avansată. Ingerarea coccilor de către monera se crede că a dus la o simbioză stabilă în care coccii mai evoluați au devenit materialul nuclear, iar monera a devenit citoplasma. Marishkowski a propus și alte exemple de simbioză, cum ar fi apariția plantelor verzi dintr-o uniune de celule nucleate incolore și *cyanophycae* minuscule care au devenit cloroplaste specializate pentru fotosinteză. Această uniune propusă este similară cu simbioza algelor verzi și a ciupercilor pentru a forma licheni și a cloroplastelor în metazoare precum *hidra*. Wallen a propus că mitocondriile au apărut ca bacterii simbiotice care au intrat și au devenit indispensabil înrădăcinate în interiorul celulelor animale.

O teorie „endosimbiotică” mai completă a originii eucariotelor a fost introdusă de biologul Lynn Sagan (mai târziu Lynn Margulis) în 1967. Ea a sugerat că celulele procariote (în special bacteriile heterotrofe anaerobe) au suferit o serie de trei evenimente simbiotice care au dus la primele eucariote. În perioada de adaptare la respirația cu oxigen, un heterotrof aerob a fost înghițit de un heterotrof anaerob. Bacteria aerobă a devenit strămoșul mitocondriilor, convertind oxigenul în ATP și a rămas ca organit intracelular. Următorul eveniment simbiotic, conform lui Sagan-Margulis, a fost ingestia unui spirochet - un organism mobil care călătorea prin lovirea asemănătoare unui bici a flagelului său asemănător unei cozi, compus din proteine cito-scheletice. Ingestia de flageli și a ancorărilor lor intracelulare, corpi bazali, se crede că a dus la cili, centrioli și microtubuli - elemente structurale și organizaționale cito-scheletice care au adus capacitățile de mișcare celulară, organizare citoplasmatică și (aparent) procesare a informațiilor (Figura 3.1). Multiple cili atașate de membranele celulare și extinzându-se spre exterior au permis organismelor cu o singură celulă, cum ar fi *Paramecium*, să înoate în mediul lor apos, extinzând considerabil capacitatea lor de a găsi hrană, de a evita prădătorii și de a-și mări orizonturile. În alte organisme staționare, *cilia* ar putea face mediul înconjurător să treacă pe lângă organism, obținând aceleași rezultate. În citoplasmă, structurile cito-scheletice, cum ar fi centriolii, corpii bazali și microtubulii, au organizat, orientat și transportat organite și materiale. Citoscheletul eucariot a preluat funcții asemănătoare schelei mecanice, a unei rețele de transport și a propriului sistem nervos al celulei.

Corpii bazali, cilii, flagelii și centriolii sunt ansambluri de microtubuli, ei înșiși ansambluri cilindrice complexe de subunități proteice și sunt omniprezente în biologia eucariotă. În aceste organite, nouă perechi sau triplete de microtubuli sunt aranjate într-un super-cilindru, care poate avea o pereche suplimentară de microtubuli în centrul său (aranjamente 9+2 sau 9+0, Figura 3.2). Implicarea acestor structuri în aproape toate cazurile de activități celulare dinamice (mitoza, creșterea și diferențierea, locomoția, ingestia de alimente sau fagocitoza, mișcarea citoplasmatică etc.) a accelerat considerabil capacitățile celulelor eucariote. Utilizând energia chimică din ATP mitocondrial, aceste elemente cito-scheletice par să fi oferit nu numai o structură stabilă și motilitate, ci și un sistem sofisticat de procesare a informațiilor „similar cu un computer”.

Tehnologia microbiană eucariotă era la fel de diferită de bacteriile de bază precum un computer de bază de un *abacus*. Eucariotele au înflorit, au evoluat și au rezolvat problemele de mediu prin amestecare și fuziune. Formând colective noi, au ajuns în cele din urmă din apă pe uscat și în aer și s-au ramificat în miriadele de forme de viață vegetală și animală care au populat biosfera de atunci. Creierul uman și sistemul nervos sunt inovații recente; *Homo sapiens* ar fi apărut în urmă cu aproximativ 50 de mii de ani.

Teoria endosimbiotică poate explica saltul neliniar în evoluție care a avut loc odată cu apariția eucariotelor, dar are detractorii săi. De exemplu, Hyman Hartman (1975) de la MIT a observat că, în timp ce mitocondriile și cloroplastele sunt de acord că au apărut ca celule procariote cu viață liberă, există unele îndoieli cu privire la pedigree-ul corpurilor bazale și al centriolilor. Sagan-Margulis (1967) a afirmat că:

> la intrarea într-o gazdă, un astfel de simbiot își poate pierde de la niciuna la toate capacitățile de sinteză, cu excepția capacității de a-și replica propriul ADN și de a sintetiza ARN complementar din acel ADN - condiția *sine qua non* a oricărui organism.

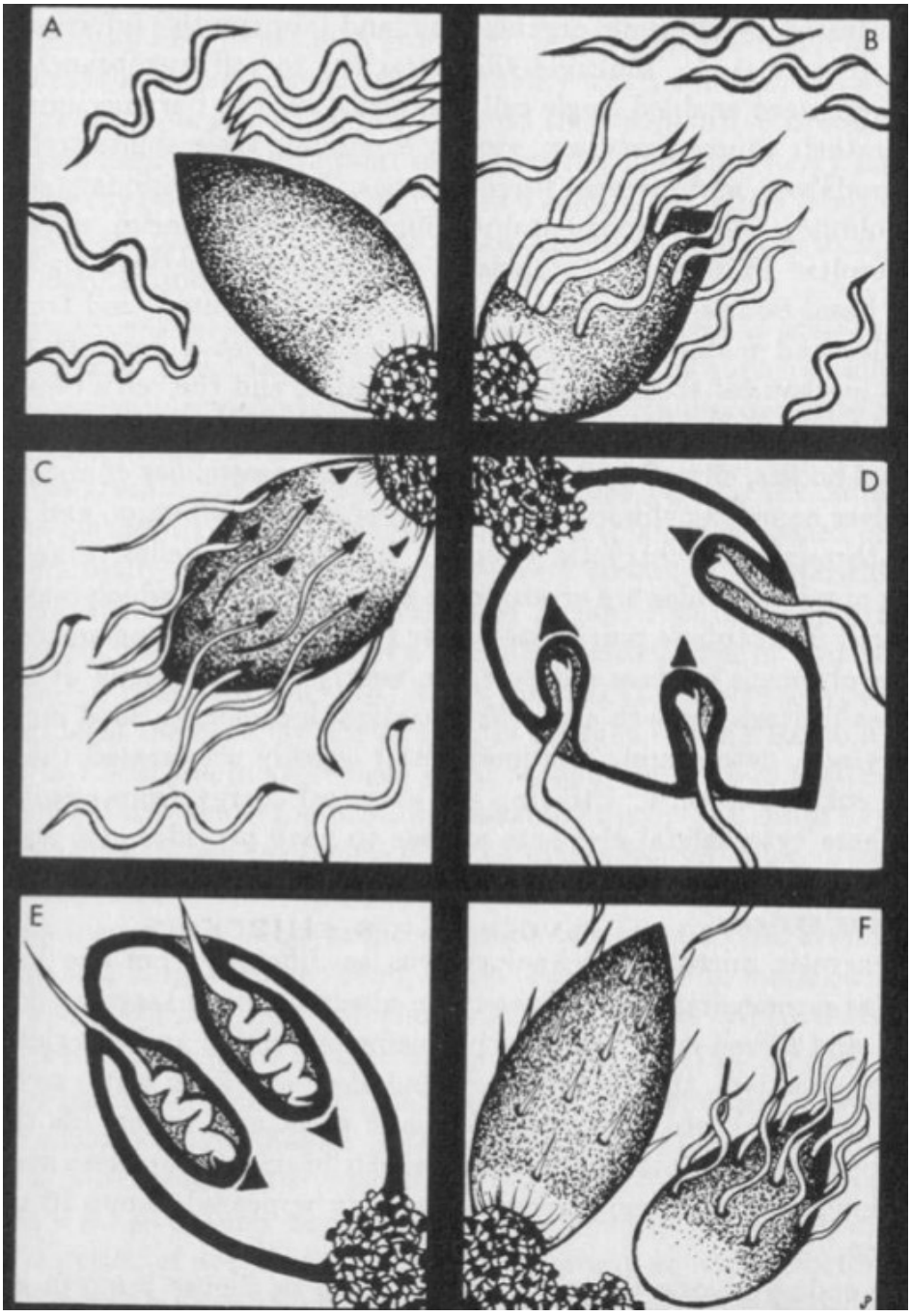


*Fig. 3.1: Ingestia simbiotică a spirochetelor mobile de către o bacterie primitivă, rezultând primele celule „eucariote”. Proteinele filamentoase ale spirochetelor au devenit, conform lui Sagan-Margulis (1967), centriolii și citoscheletul care asigură mișcarea și organizarea citoplasmei. De Paul Jablonka*

Aceasta implică faptul că organitele simbiotice care au luat naștere ca organisme separate trebuie să își păstreze capacitatea de sinteză a nucleotidelor. S-a demonstrat că mitocondriile și cloroplastele au propriul ADN, însă ADN-ul nu a fost izolat în cazul centriolilor sau al corpurilor bazale. De fapt, aceste organite citoscheletice se autoreplică în mod obișnuit fără ADN, deși Hartman a arătat că ARN-ul poate exista în asociere cu corpurile bazale. Poate că ADN-ul centriolar s-a pierdut în amestecul evolutiv sau citoscheletul dispune de alte mecanisme de transfer al informațiilor. Dovada transmiterii de informații citoplasmatice de-a lungul a sute de generații de *Paramecium* fără implicare genetică (Aufderheide, Frankel și Williams, 1977) sugerează că centriolii și alte elemente ale citoscheletului pot avea un anumit grad de independență (figura 5.27). Procesarea informațiilor în timp real se face în provincia citoscheletală, astfel încât replicarea ADN-ului poate să nu fie „condiția *sine qua non*" a organismelor vii. Activitățile dinamice, colective ale centriolilor, microtubulilor și altor proteine citoscheletice pot manifesta inteligență biologică și pot fi mai aproape de esența vieții decât mecanismele genetice. Formele de viață ambigue pot fi deosebit de importante în viitor.

## 3.3 Centriolii - răpitorii evoluției

Apariția centriolilor și a structurilor citoscheletale conexe ca organizatori inteligenți mobili pe scena evoluției în urmă cu un miliard de ani ar fi putut fi cheia succesului eucariotelor și a inițierii neamului care a condus la conștiința umană.

Centriolii sunt aparatele specifice din celulele vii care declanșează și ghidează reorganizările majore ale structurii celulare care au loc în timpul mitozei, creșterii și diferențierii. Centriolii sunt compuși din doi cilindri similari (fiecare dintre aceștia fiind denumit și „centriole") cu diametrul de 0,2 microni (200 nanometri). Fiecare cilindru posedă o simetrie radială cu nouă falduri și este format din tripleți de microtubuli fuzionați longitudinal. O structură filamentoasă în formă de roată de căruță (sau „rotiță") pare să țină împreună capătul fiecărui cilindru centriole. Un centriole generează altul prin replicare care are loc în unghi drept față de axa lungă a cilindrilor. Această replicare perpendiculară care inițiază mitoza este contra-intuitivă în comparație cu replicarea longitudinală sau fisiunea și rămâne unul dintre misterele care înconjoară centriolii.

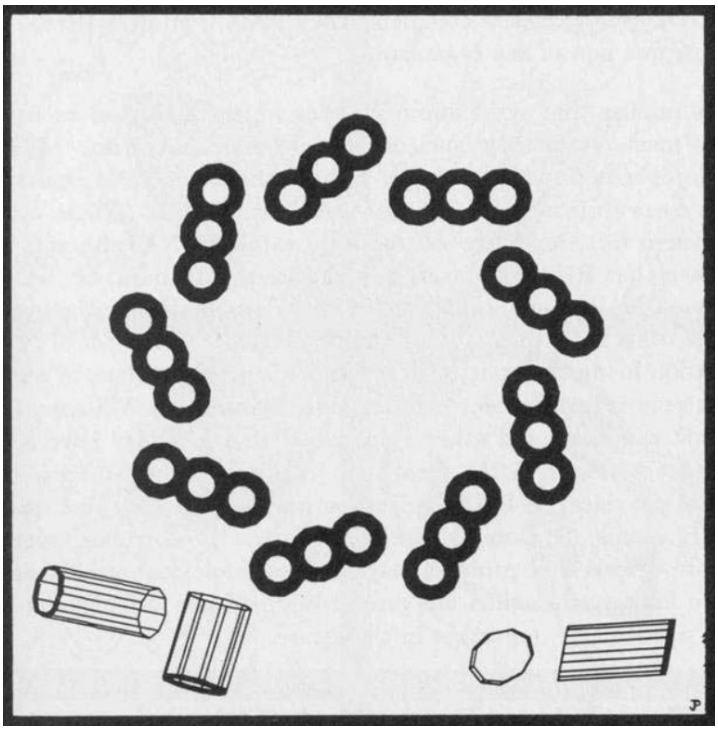

*Fig. 3.2: Centriolii sunt cilindri din 9 triplete de microtubuli, reprezentate aici în secțiune transversală. Perechile de centrioli se asociază în unghi drept unul față de celălalt, ilustrate aici în partea de jos. De Paul Jablonka.*

Centriolii se află într-o porțiune a citoplasmei cunoscută sub numele de *centrozom* (sau centrosferă) adiacentă membranei exterioare a nucleului celular. Prin declanșarea și ghidarea polimerizării microtubulilor și a altor elemente citoscheletice, centriolii organizează temporar și spațial citoplasma („centru de organizare a microtubulilor” - MTOC, figura 3.3 și capitolul 5). De exemplu, centriolii și microtubulii (fusurile mitotice) separă cromozomii și stabilesc arhitectura celulelor fiice (figura 3.4) - caracteristici care au avut avantaje enorme în accelerarea evoluției eucariotelor.

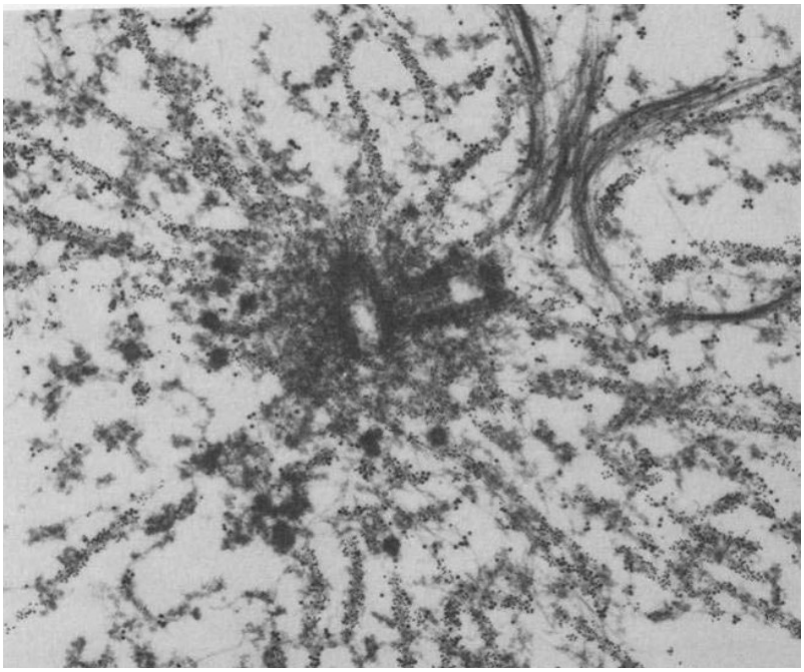

*Fig. 3.3: Centrioli la polul fusului în celula mitotică de rinichi PtK2. Centriolele perpendiculare sunt observate în materialul pericentriolar dens din care radiază MT, punctate cu imunogold. O rețea filamentoasă este observată în dreapta și deasupra centrului de organizare a microtubulilor (MTOC). Scară: 3,3 milimetri pe micrografie = 100 nanometri. Cu permisiunea lui Geuens, Gundersen, Nuydens, Cornelissen, Bulinski și DeBrabander (1986), cu amabilitatea lui Marc DeBrabander și Janssen Pharmaceutica Research Laboratories*

Corpii bazali asemănători centriolilor, acționând lângă membranele celulare, induc formarea cililor ca apendice care proemină din suprafețele exterioare ale celulelor. Cilii au structuri practic identice cu centriolii, cu excepția faptului că sunt acoperiți de membrană și, în cazul cililor motorii, au o pereche centrală de microtubuli și interconexiuni contractile care acționează pentru a îndoi și a undui cilii într-o varietate de funcții de control. Acestea variază de la propulsia organismelor unicelulare *Paramecium* până la expulzarea prafului și a particulelor din căile respiratorii umane. În mod similar, cilii senzoriali permit comunicarea cu mediile externe pe o gamă biologică largă, de la organisme unicelulare până la urechile interne ale ființelor umane, transformând sunetul mecanic în sistemul nervos. Generațiile de cili mobili și senzoriali au permis celulelor eucariote precum *Paramecium* să se miște prin cantități vaste din mediul lor apos, servind la maximizarea sursei lor de hrană, precum și la perceperea informațiilor senzoriale din mediul lor. Acest lucru a dus la activități complexe care implică logică și prelucrarea informațiilor, ceea ce i-a determinat pe oamenii de știință din secolul al XIX-lea să atribuie o conștiință rudimentară unor astfel de organisme.

Un alt mister care înconjoară centriolii este comanda lor asupra orientării în spațiu și capacitatea de a transmite acele informații altor structuri citoscheletice. Navigația și senzația de gravitație au fost sugerate a reprezenta o funcție "giroscopică" a centriolilor (Bornens, 1976), care au fost, de asemenea, descrișI ca detectoare de semnal perfect proiectate (Albrecht-Buehler, 1981).

Aceste modele și alte modele de prelucrare a informațiilor și inteligență în centrioli și citoschelet vor fi abordate în Capitolul 8.

Relevant evoluției este faptul că centriolii au furnizat eucariotelor un sistem sofisticat de procesare a informațiilor și de comunicare celulară. Consecințele unui astfel de sistem asupra biologiei sunt poate analoge cu impactul potențial al calculatoarelor asupra societăților. Misterul și eleganța estetică a centriolilor, precum și faptul că, în anumite cazuri, par a fi superflui, au creat o aură enigmatică în jurul acestei organite minunate. În prefața cărții lui Wheatley (1982) *Centrioles: The Central Enigma in Cell Biology* (Centrioli: Enigma centrală în biologia celulară), biochimistul B. R. Brinkley afirmă:

> Înainte ca telescopul lui Galileo să le conteste opiniile, primii savanți susțineau că Pământul era centrul universului în jurul căruia se învârtea Soarele. În urma descoperirii lor de către microscopii optici, centriolilor li s-a dat un rol la fel de permanent în citoplasma celulelor eucariote. Această organită minusculă era considerată a fi centrul universului citoplasmatic....

Frumusețea structurală a centriolilor, geometria de nepătruns, comportamentul complicat, comanda de navigație și originea aparentă ca invadator din regatul procariot se adaugă misticismului lor. Scriind în cartea lui Wheatley, Patelca afirmă: "biologii sunt de multă vreme bântuiți de posibilitatea ca semnificația primară a centriolilor să le fi scăpat".

O posibilă concluzie este că centriolii sunt nano-motoare inteligente care au "sărit de pe vas" de la o specie anterioară pentru a-și optimiza simbiotic stilul de viață. Făcând acest lucru, ei au cooptat biologia și, în concert cu alte structuri dinamice ale citoscheletului, au împins inteligența la stadiul actual al evoluției. Următorul eveniment simbiotic poate avea implicații la fel de profunde. Tehnologiile la scară nanometrică pot interacționa direct cu inteligența biomoleculară.

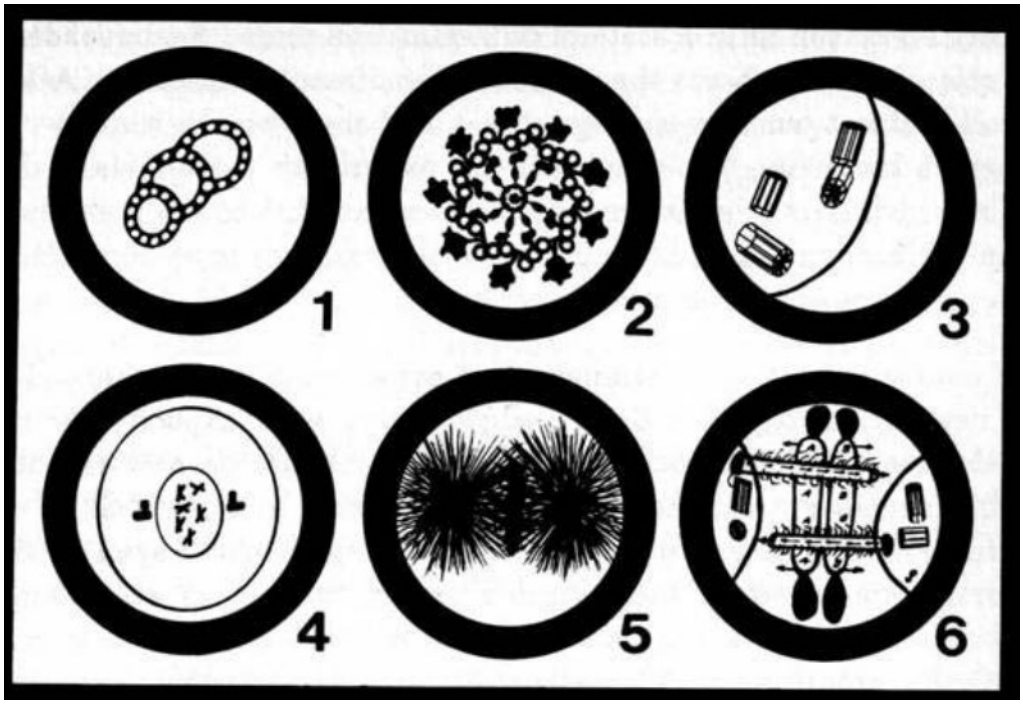


*Fig. 3.4: Centriolii în diviziunea celulară. 1) Secțiune transversală a tripletului de microtubuli al centriolei. 2) Secțiune transversală a unei centriole cu 9 triplete de microtubuli, 9 corpuri satelit și structura centrală „pinwheel”. 3) Perechi de centriole lângă nucleul celulei, înainte de diviziunea celulară. 4) Perechile de centriole s-au separat și au migrat; cromozomii sunt pregătiți pentru separare. 5) Fusurile mitotice, compuse din microtubuli, s-au format din centrele centriolelor (MTOCs), cu cromozomii în mijloc. 6) Microtubuli ancorați în centriole separând o pereche de cromozomi duplicați. De Paul Jablonka.*

## 3.4 Evoluția biotehnologiei - următoarea simbioză

Există mai multe indicii că evoluţia tehnologiei va forţa o altă accelerare neliniară a evoluției biologice, care a făcut faţă crizelor precum oxigenul toxic acum două miliarde de ani, a utilizat noi surse de energie, a locuit noi medii, a dezvoltat noi forme și a generat tehnologii care au evoluat la rândul lor. Mulţi observatori au fost alarmați de evoluția tehnologică. Savantul și satiristul din secolul al XIX-lea Samuel Butler (Margulis și Sagan, 1986) a luat în considerare posibilitatea ca mașinile să suprime oamenii și să-și asume supremația pe Pământ:

> omul va deveni pentru mașină ceea ce calul și câinele sunt pentru om - el poate continua să existe, chiar să se îmbunătățească și, probabil, îi va fi mai bine într-o stare de domesticire sub conducerea binefăcătoare a mașinilor decât în starea sa sălbatică actuală. La urma urmei, ne tratăm caii, câinii, vitele și oile în general cu mare bunătate. Le dăm ceea ce experienţa ne învaţă că este cel mai bine pentru ei. În mod similar, este rezonabil să presupunem că mașinile ne vor trata cu bunătate, deoarece existența lor depinde de a noastră, la fel cum existența noastră depinde de animalele inferioare.

Desigur, mâncăm unele animale și experimentăm pe altele. Se pare că fiecare tehnologie nouă este o sabie cu două tăișuri, cu capacitatea de a face bine sau rău - scenariul de bază „Frankenstein”. Dar dependența de tehnologia nouă este probabil necesară și inevitabilă pentru adaptare și supraviețuire într-o lume mereu aglomerată și progresiv toxică. Margulis și Sagan (1986) îl citează pe teoreticianul general de sisteme John Platt, care este un student al accelerării evoluționare și crede că viața pe pământ se poate apropia de un punct de cotitură extrem de important. Calculul și comunicarea globală care au apărut după al Doilea Război Mondial au devenit, potrivit lui Piatt: „un sistem nervos social colectiv pentru gestionarea a milioane de probleme ale noastre, iar importanța sa pentru viitorul pe termen lung poate fi la fel de mare ca aceea a primului sistem nervos de învățare”.

Noile tehnologii pot ajuta biologia să facă faţă direct crizelor actuale și viitoare. În cartea lor, *Microcosmos: 4 Billion Years of Evolution from our Microbial Ancestors* (Microcosmos: 4 Miliarde de ani de evoluție de la strămoșii noștri microbieni), Margulis și Sagan (1986) descriu unele posibilităţi surprinzătoare. Ei consideră că omul actual nu este cu mult mai mult decât comunităţi de bacterii, manifestări modulare ale celulei nucleate și că noile forme de viaţă „artificiale” vor apărea din fuziunea simbiotică a biologiei și tehnologiei. Ei văd acest lucru întâmplându-se de-a lungul a trei linii: biotehnologie genetică, robotică computerizată și bio-cipuri:

> *... într-o zi, în curând, seturi întregi de gene, proteine și hormoni pot fi îmbinate în laborator pentru a crea noi specii de microbi. Pe măsură ce vom dobândi o mai bună înțelegere a embriologiei și imunologiei, cu siguranță vom clona celule în organisme din ce în ce mai mari și mai complexe, care cu siguranță vor interveni în propria noastră evoluție*.

Pe măsură ce robotica informatică evoluează puţin spre nanotehnologie, interacţiunile colective cu biotehnologia genetică și biocipurile naturale ar putea precipita următoarea fază evolutivă de tranziție: simbioza minte/tehnologie.

Margulis și Sagan (1986):

> Robotica și bacteriile [pot deveni] ... unite în cele din urmă în biocipuri bazate nu pe siliciu, ci pe compuși organici complecși. ... Moleculele fabricate ar face schimb de energie cu mediul înconjurător ... pentru a o transforma în informație [și] ar deschide porțile către „cybersimbioză”, îmbinarea părţilor umane și fabricate în noi forme de viaţă și, în cele din urmă, ne-ar permite să ne refacem specia. ... *Homo sapiens* ar putea supraviețui doar ca un organ rudimentar, un sistem nervos delicat disecat, atașat la brațe de plastic acționate electronic.

Hans Moravec (1986), de la Laboratorul de robotică al Universității Carnegie-Mellon și autor al cărții *Mind Children* (Copiii minții), are propria sa viziune asupra simbiozei minte/tehnologie, în care chirurgii robotici ultraprecişi transferă software-ul conştiinţei umane către un supercomputer. El descrie avantajele existenţei în siliciu sau arsenură de galiu cu corpuri robotice. Printre acestea se numără rezistenţa la medii dificile, transportul electronic prin galaxii şi imunitatea la boli. Max Headroom este o personalitate ipotetică a televiziunii a cărei conştiinţă există numai în computere şi echipamente electronice. Conţinutul mental al unui motociclist rănit la cap („Max. Headroom 2.3m" a fost ultima sa imagine înainte de accident) este cumva transferat, colectat şi există activ în circuitele electronice. Max Headroom, un fel de figură a cultului video, poate fi prima dintr-o serie de entităţi tehnocognitive.

Îmbinarea dintre minte şi tehnologie ar fi un truc ingenios, plin de potenţiale beneficii şi pericole! Desigur, aceasta ar depinde de o înțelegere a mecanismului conştiinţei care nu este disponibilă în prezent. Poate că nanosenzorii disponibili iminent vor fi capabili să interacţioneze dinamic la nivelul reţelelor proteice citoscheletice din toate celulele vii. Această interacţiune ar putea conduce la următoarea simbioză, una care va avea efecte la fel de profunde asupra biologiei precum conversia de la procariote la eucariote. Dacă nanotehnologia şi biologia devin simbiotice, conştiința poate fi o marfă.

# 4. De la creier la citoschelet

## 4.1. Evoluția sistemului nervos

Filozoful german Nietzsche a scris:

> "Atunci trebuie să fii un om de ştiinţă al cărui domeniu este lipitoarea", a spus Zarathustra, "şi trebuie să urmăreşti lipitoarea până la ultimul ei fund de stâncă, om conştiincios!" "O, Zarathustra!" a răspuns omul, "asta ar fi o enormitate, cum aş putea să-mi asum o sarcină atât de mare? Ceea ce sunt eu maestru şi cunoscător este creierul de lipitoare: acesta este domeniul meu şi este un întreg univers".

Creierul uman pare să fi evoluat din predecesorii viermilor de pământ şi lipitorilor, a căror dezvoltare a reprezentat o etapă importantă în evoluția eucariotelor (Somjen, 1983). Sistemele nervoase ale acestor organisme constau probabil dintr-un lanț de aglomerări organizate de celule nervoase numite ganglioni, sau poate două lanțuri de ganglioni împerecheați simetric, cu un ganglion al capului mărit la capătul din față. Polaritatea şi axa preferată de orientare care au definit aceste sisteme nervoase de bază sunt legate de polaritatea şi asimetria din cadrul celulelor nervoase componente, sau neuroni, fiecare un "univers" al său. După cum se va descrie în capitolele următoare, orientarea şi asimetria neuronală sunt determinate de citoschelet care, în multe privințe, este sistemul nervos din toate celulele plantelor şi animalelor superioare.

De-a lungul evoluției, ganglionul capului lipitorii primitive a început să domine ceilalți membri ai lanțului său, luând „decizii” care necesitau cooperarea întregului ansamblu. Fiecare ganglion segmentar mai păstra o anumită autonomie de acțiune şi, când era tăiat în bucăți, o astfel de creatură ar fi putut regenera organisme individuale noi complete, la fel ca urmașii săi actuali. Perechile de lanțuri ganglionare ale lipitorilor seamănă cu lanțurile ganglionare simpatice ale vertebratelor care păstrează o măsură de autonomie. De exemplu, sistemul nervos autonom al omului poate regla eficient inima, intestinul, vasele de sânge şi alte sisteme de organe chiar şi atunci când este deconectat de creier şi măduva spinării.

Tranziția de la un organism segmentat la un sistem nervos ca al nostru s-a produs probabil datorită fuziunii lanțurilor perechi de ganglioni într-o structură asemănătoare unui tub de țesut nervos. Apoi, rădăcinile nervoase perechi au apărut din sistemul central primitiv, asemănătoare cu rădăcinile spinale ale vertebratelor de astăzi. Aceste rădăcini au conectat sistemul nervos central cu organele senzoriale periferice, mușchii şi glandele. În cele din urmă, extremitatea capului tubului neural a crescut în dimensiune şi importanță până când a dominat majoritatea funcțiilor sistemului nervos, un proces numit „encefalizare” de către renumitul neurolog englez Hughlings Jackson (Somjen, 1983). Encefalizarea, care a avut loc de-a lungul eonilor şi poate continua în prezent în cadrul omului, reflectă dezvoltarea unei organizații ierarhice într-un sistem altfel paralel, distribuit. Componentele creierului care sunt mai bine organizate şi capabile de funcții mai complexe sunt, în general, mai noi pe scara evoluționistă (adică „neocortexul”). O ierarhie colectivă de sisteme paralele de prelucrare a informațiilor bazată pe organizarea funcțională, care include elemente subcelulare (citoscheletul şi substanța fundamentală citoplasmică), este prezentată în Tabelul 4.1.

## 4.2 Organizarea sistemului nervos

Activitățile creierului au fost studiate intensiv de diverse discipline timp de mulți ani. În secțiunile următoare, sunt prezentate elementele esențiale ale organizării creierului. Scopul este de a oferi un context suficient de cuprinzător pentru a justifica afirmația conform căreia citoscheletul este un mediu care stă la baza procesării informațiilor în cadrul neuronilor din creier.

### 4.2.1. Arhitectură

Sistemul nervos central (SNC) al vertebratelor, inclusiv al omului, este organizat într-o

ierarhie ascendentă de structuri paralele - măduva spinării, trunchiul cerebral şi creierul. Sistemul nervos periferic este format din nervii periferici şi ganglionii sistemului nervos autonom. Creierul uman conţine aproximativ o sută de miliarde de neuroni. Evoluţia a determinat o deplasare "cefalică" a importanţei, dimensiunii relative şi controlului către centrele superioare sau neocortex, care la om este mai mare şi mai complex decât la alte mamifere. Există similitudini generalizate în structura, compoziţia şi funcţionarea sistemelor nervoase centrale la toate vertebratele. Neuronii din toate sistemele nervoase sunt ei înşişi organizaţi prin citoscheletele lor componente.

| **Creier/Minte** |
|---|
| conştiinţă, "sine", "ochiul minţii", atenţie |
| |
| **Sisteme cerebrale, homunculi, "centre"** |
| neuroni legați funcțional, regiuni anatomice, ansambluri de rețele, reverberație |
| |
| **Reţele neuronale sinaptice, carteluri, module** |
| cooperativitate datorată interconectării dense, paralelism, memorie asociativă, învățare, plasticitate sinaptică |
| |
| **Neuron** |
| intrări şi ieşiri sinaptice multiple, procesare dendritică, plasticitate sinaptică, transport axoplasmatic |
| |
| **Citoschelet** |
| centrioli, microtubuli, filamente, morfologie sinaptică, organizare celulară spațiotemporală, automate celulare, oscilații coerente |
| |
| **Substanţa de bază citoplasmatică („Infoplasmă”)** |
| stări sol-gel, actină geodezică, structuri tensegrity, apă ordonată, modele disipative, interferență holografică |

*Tabelul 4-1: Ierarhia colectivă a sistemelor paralele de prelucrare a informațiilor.*

Două tipuri de celule alcătuiesc ţesutul nervos: neuronii şi celulele satelit. În sistemul nervos central, celulele satelit se numesc *neuroglii*, iar la periferie, celule Schwann. Aceste celule satelit înfăşoară straturi şi straturi de peliculă de mielină în jurul neuronilor, formând ceea ce în general se consideră a fi o simplă izolaţie care creşte viteza de propagare a semnalelor.

Părţile unui neuron sunt dendritele, corpul celular (sau *perikaryon*) şi axonul, denumit şi „fibră” nervoasă. Dendritele şi corpul celular primesc în general semnale de intrare, iar corpul celular le transformă într-un semnal de ieşire transportat de axon (figura 4.1). ”Materia albă” a sistemului nervos central este formată din traiecte de fibre şi celulele gliale mielinizante ale acestora, în timp ce „materia cenuşie” se referă la aglomerările de corpuri celulare şi dendrite cunoscute sub denumirea de „nuclee”. O diagramă schematică a organizării funcționale a creierului este prezentată în figura 4.2.

## 4.2.2. Semnalarea neuronală

Semnalele care transmit informații între celulele nervoase constau din modificări de potențial electric produse de curenți ionici care curg prin membranele lor de suprafață. Curenții sunt transportați de ioni precum sodiu, potasiu, calciu și clor și apar datorită deschiderii și închiderii canalelor ionice proteice de membrană. Nervul menține o polarizare electrică peste membrana sa prin pomparea activă a ionilor de sodiu în afară și a ionilor de potasiu în interior. Astfel, când canalele ionice sunt deschise (prin modificări de tensiune, neurotransmițători, medicamente etc.) sodiul și potasiul trec rapid prin canal, creând o depolarizare. În funcție de locația spațială și de secvența temporală a canalelor, activarea poate duce la unde folosite ca semnale.

Neuronii transportă doar două tipuri evidente de semnale: potențialele "*gated*" localizate, care sunt mai vechi pe scara evoluționistă și analogice, și potențialele de acțiune "*totul sau nimic*" propagatoare, care sunt mai noi și digitale. Potențialele "*gated*" localizate pot ajunge să se răspândească doar unul sau doi milimetri, sunt atenuate și distorsionate de rezistivitatea locală și sunt esențiale acolo unde este necesară sumația spațială și temporală ("integrare"). Acest lucru se întâmplă la terminațiile nervoase senzoriale ("potențialele receptorilor"), joncțiunile sinaptice neuronale unde sunt integrate atât potențialele excitatorii, cât și cele inhibitoare ("potențialele sinaptice") și sub formă de unde lente care apar ca depolarizări ritmice în dendrite. Potențialele "*gated*" în dendrite sunt, de asemenea, integrate la corpul celular pentru a iniția (dacă este cazul) potențialele de acțiune propagatoare de-a lungul axonilor. Un rol primar pentru potențialele dendritice localizate în procesarea informațiilor neuronale cerebrale a fost subliniat de mai mulți autori, inclusiv Alwyn Scott (1977) și Ross Adey (1966) care consideră că potențialele undelor lente dendritice le permit neuronilor cerebrali să "șușotească împreună".

Potențialele de acțiune („impulsuri nervoase”) se propagă ca unde de depolarizare a membranei de-a lungul axonilor. Acestea apar datorită deschiderii secvențiale a canalelor de membrană care permit difuzia pasivă a ionilor. Golurile în mielinizare („nodurile Ranvier”) de-a lungul axonilor conțin canale ionice abundente, astfel încât impulsurile se propagă rapid între noduri, unde sunt încetinite și susceptibile la modulare („conducere saltatorie”). Cu această excepție, potențialele de acțiune apar pe o bază „totul sau nimic” (adică digitală) din integrarea intrărilor dendritice (adică analogice) în regiunea corpului celular al neuronului. Frecvența de declanșare este legată de intensitatea stimulului; un nerv senzorial care răspunde la întinderea musculară se declanșează la o rată proporțională cu gradul de întindere. Viteza potențialului de acțiune este fixă pentru anumiți axoni, dependentă de diametrul axonului, gradul de mielinizare și distribuția canalelor ionice. Vitezele tipice ale potențialului de acțiune de aproximativ 100 de metri pe secundă permit o comunicare eficientă în cadrul sistemelor nervoase relativ mari.

## 4.2.3 Sinapsele interneuronale

Potențialele de acțiune și axonii se termină la conexiunile sinaptice cu alți neuroni sau celule efectoare, cum ar fi mușchii sau glandele. Porțiunile finale de ramificare ale axonilor sunt subțiri, cu terminații sinaptice umflate, cunoscute sub numele de butoni. Unii axoni pot avea butoni multipli, fiecare formând o sinapsă. În general, sinapsele se formează între terminalul axonal și dendrita unui alt neuron, deși apar și sinapse axon-corp celular, axon-axon și dendrită-dendrită. Multe, chiar majoritatea, sinapselor dendritice apar pe „spini” dendritici, protuberanțe dendritice noduroase.

Au fost recunoscute două moduri de semnalizare sinaptică: electrică și chimică. La sinapsele electrice, curenții generați de un impuls al terminalului nervos presinaptic se răspândesc direct la neuronul următor printr-o cale de rezistență scăzută (care pot fi rețele de filamente proteice extracelulare cunoscute sub numele de „sinapsină”). Site-urile pentru comunicarea electrică între celule au fost identificate în micrografii electronice ca joncțiuni **gap** în care spațiul intercelular obișnuit de câțiva zeci de nanometri este redus la aproximativ doi nanometri. Se pare că există un număr uriaș de sinapse electrice în creierul mamiferelor (estimat a fi de până la 80 la sută din toate sinapsele), dar din cauza dificultăților în izolare, caracterizare și incapacitatea de a le studia prin manipulare farmacologică, semnificația lor rămâne necunoscută. Sinapsele chimice au fost studiate pe larg.

La sinapsele chimice, golul fluid dintre membranele presinaptice și postsinaptice împiedică o răspândire directă a curentului și lipsa unei conexiuni electrice între neuroni. Butonul sinaptic conține cantități mari de vezicule sferice (aproximativ 50 de nanometri diametru) care conțin molecule de neurotransmițător. Acetilcolina, norepinefrina, serotonina, dopamina, acidul gama amino butiric (GABA) și diverse peptide și amine au fost identificate ca neurotransmițători. Unii sunt excitatori, în timp ce alții (adică GABA) sunt inhibitori.

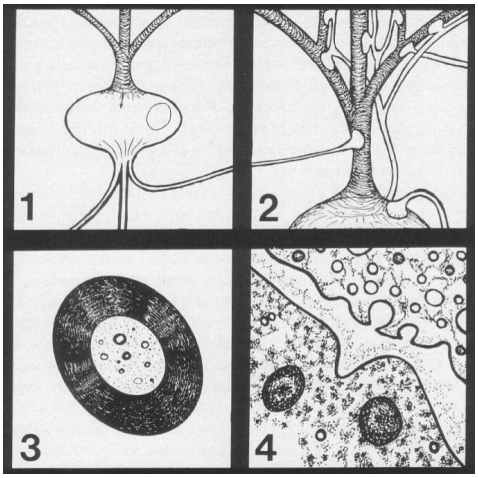


*Fig. 4.1: Organizarea neuronală: 1) Dendrite ramificate (sus) care intră în corpul celular sau perikaryon; axoni ramificați care ies în partea de jos. 2) Axonii formează sinapse pe dendrite și corpul celular. 3) Axon înconjurat de 100 de straturi de mielină care măresc viteza de conducere; structurile vizibile în axon includ mitocondrii, vezicule de neurotransmițători și microtubuli. 4) Fanta sinaptică; veziculele de neurotransmițător (dreapta sus) fuzionează cu membrana pe măsură ce sunt eliberate. De Paul Jablonka.*

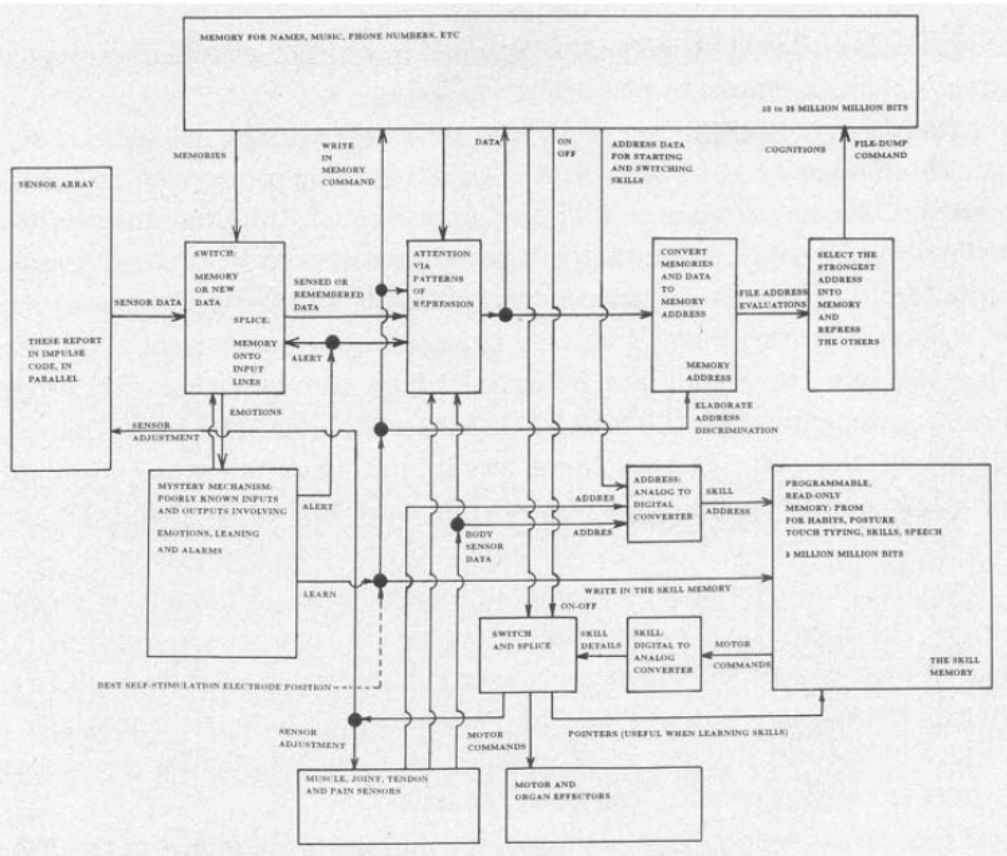


*Fig. 4.2: Diagrama schematică a componentelor funcționale ale creierului. De Paul Jablonka.*

Secvența evenimentelor care eliberează moleculele de neurotransmițător din terminațiile nervoase este remarcabil de uniformă la toate sinapsele. Moleculele de transmițător sunt stocate în interiorul terminațiilor nervoase presinaptice în vezicule mici, care sunt analoge granulelor secretorii ale celulelor glandulare. Cantitatea de neurotransmițător dintr-o singură veziculă este considerată un „cuantum", iar în sinapsele neuromusculare fiecare cuantum constă din o mie până la cinci mii de molecule de acetilcolină. Fiecare potențial de acțiune care ajunge la terminalul presinaptic eliberează un număr de cuante veziculare, variind de la câteva la câteva sute. Mecanismul de cuplare dintre potențialul de acțiune și eliberarea veziculelor implică atât calciu, cât și citoscheletul. Pe măsură ce un impuls de potențial de acțiune ajunge la terminalul nervos presinaptic, ionii de calciu intră în citoplasmă prin membrană, prin canale dependente de voltaj. În terminalele nervoase presinaptice, curentul ionic intern al potențialului de acțiune este, astfel, transportat parțial de sodiu și parțial de calciu. Calciul liber din citoplasma terminalului face ca veziculele să fuzioneze cu membrana de suprafață și să își expulzeze conținutul. Mecanismele prin care calciul declanșează eliberarea veziculelor din terminalul presinaptic nu sunt clar înțelese, cu toate acestea, proteinele citoscheletice, inclusiv actina contractilă, miozina și alte proteine filamentoase sunt implicate. Calciul mediază activitățile contractile dinamice în flagelii și mușchii scheletici și pare să declanșeze expulzarea citoscheletală a neurotransmițătorilor din terminațiile nervoase.

După eliberare, moleculele transmițătoare difuzează prin fanta sinaptică și se leagă reversibil cu receptorii membranei postsinaptice. Distanța dintre cele două membrane este suficient de mică, astfel încât difuzia durează aproximativ o milisecundă - un eveniment relativ lent în comparație cu comutarea în semiconductori. Ori de câte ori o moleculă transmițătoare se leagă de membrana postsinaptică, aceasta provoacă o mică modificare a tensiunii electrice în membrana postsinaptică, numită potențial miniatural de placă terminală, care poate fi fie excitator, fie inhibitor, în funcție de molecula neurotransmițătorului și de receptorul postsinaptic. În starea de repaus, există eliberări spontane de vezicule individuale care cauzează o rată de fond de potențiale miniaturi de placă terminală care sunt sub pragul pentru depolarizarea celulei postsinaptice.

Legarea specifică a moleculelor de neurotransmițător de receptorii postsinaptici modifică permeabilitatea membranei la ioni specifici, care produc potențiale receptoare localizate, care sunt fie excitatoare, fie inhibitoare. Membrana postsinaptică „integrează" potențialele receptoare locale spațial și temporal, astfel încât, atunci când un „prag" este depășit, semnalele se propagă în dendrita postsinaptică, corpul celular sau axon.

Dacă răspunsul este excitator sau inhibitor depinde de specia canalului ionic care transportă curentul sinaptic. De exemplu, în joncțiunea neuromusculară, acetilcolina crește permeabilitatea postsinaptică la sodiu și potasiu, ducând la un potențial de acțiune excitator, depolarizant. Canalele activate de acetilcolina postsinaptică se deschid timp de una până la două milisecunde și permit o intrare netă de aproximativ $2 \times 10^4$ ioni. Alte canale sinaptice rămân deschise timp de zeci de milisecunde și trec $10^5$ ioni sau mai mulți. Alți receptori postsinaptici se cuplează direct la modificările citoscheletice și nu implică deloc conducerea ionică. La sinapsele inhibitoare, GABA poate crește permeabilitatea la ionul de clorură, îndepărtând potențialul membranei de prag: inhibiția poate apărea, de asemenea, presinaptic, caz în care eliberarea neurotransmițătorului excitator este împiedicată. Prin combinarea mai multor intrări, sinapsele „calculează" pentru a determina ieșirea lor.

Celulele nervoase se influențează reciproc prin excitație, producând impulsuri într-o altă celulă, sau prin inhibiție, având tendința de a preveni apariția impulsurilor într-o celulă adiacentă. De asemenea, are loc inhibiția laterală; activitatea într-un grup de axoni activi inhibă declanșarea în fibrele din apropiere - un mecanism aparent de ascuțire sau focalizare. Un neuron primește multe intrări excitatorii și inhibitorii de la alte celule (convergență) și, la rândul său, furnizează multe altele (divergență). Procesul prin care neuronii combină împreună toate semnalele lor de intrare este cunoscut sub numele de *integrare*. Astfel, fiecare celulă trebuie să integreze o multitudine de intrări sinaptice (până la 200.000 de sinapse per neuron) pentru a-și determina propria ieșire. Niveluri suplimentare de procesare la punctele de ramificare dendritice, spinii dendritici, noduri active între

tecile de mielină și modificări ale eficacității sinaptice ilustrează complexitatea la nivelul neuronilor individuali. Mai degrabă decât un simplu comutator, fiecare neuron este mai mult ca un computer. Citoscheletul intraneuronal este sistemul nervos în interiorul sistemului nervos.

## 4.3. Reprezentarea informației

Enigma centrală în știința creierului este modul în care informația este reprezentată în sistemele nervoase. Înțelegerea mecanismelor vastelor capacități de stocare, regăsire și procesare a informațiilor din creier ar fi extrem de benefică nu numai pentru neuroștiințe, ci și pentru lucrătorii din domeniul informaticii, în special al inteligenței artificiale (AI). Într-adevăr, s-au făcut progrese uriașe în domeniul inteligenței artificiale prin utilizarea unor „presupuneri bune” cu privire la procesarea informațiilor din creier și, invers, înțelegerea funcțiilor și capacităților creierului este avansată de teoria legată de inteligența artificială, inclusiv rețelele neuronale și conexionismul paralel.

Ipoteza care stă la baza funcționării creierului și baza comparativă pentru inteligența artificială consideră rețele paralele de unități conectate în care neuronii și conexiunile lor sinaptice sunt substraturile fundamentale. Cu toate acestea, neuronii individuali efectuează o cantitate semnificativă de prelucrare analogică atât la nivelul dendritelor, cât și în cadrul citoscheletului lor. De exemplu, modificarea pragului de transmisie sinaptică, piatra de temelie a modelelor de învățare a rețelelor neuronale, este reglată de citoschelet și de conexiunile sale citoplasmatice. Considerarea neuronilor ca substraturi digitale fundamentale (întrerupătoare sau porți într-un computer) poate fi o neglijare a unei dimensiuni importante disponibile pentru organizarea inteligenței.

### 4.3.1 Integrarea - Centrele reflexe ale lui Sherrington

Prelucrarea modelelor dinamice de activitate excitatorie și inhibitoare din cadrul maselor de neuroni („centre reflexe”) a fost descrisă ca „integrare” de către renumitul neuroștiințific C. S. Sherrington în anii 1930.

Creierul se confruntă continuu cu sarcina de a lua decizii pe baza informațiilor despre lumea exterioară furnizate de organele senzoriale și a informațiilor stocate în memorie. În orice moment, semnalele primite din diverse surse din periferie excită creierul. Mecanismele prin care sunt luate în considerare și i se atribuie priorități diferitelor tipuri de informații se numesc „integrare” și se desfășoară la toate nivelurile de organizare ale creierului. Într-un exemplu global de integrare, un animal confruntat cu un pericol integrează informațiile primite într-o decizie binară: „luptă sau fugă”. Centrele noastre superioare primesc continuu informații provenite dintr-o mare varietate de surse de la suprafața corpului și din organele interne. Un neuron central tipic se confruntă cu o sarcină similară cu cea a creierului în ansamblu. Acesta este ținta semnalelor excitatorii și inhibitoare convergente pe care le transformă („integrează”) în propriile impulsuri. Principiile generale ale integrării au fost descoperite la începutul secolului al XX-lea de Sherrington (1933, 1947), care a înregistrat tensiunea din mușchii scheletici prin reflexul de întindere înainte ca înregistrarea electrică din celulele individuale să fie posibilă. Integrarea pare să aibă loc la toate nivelurile sistemului nervos și în rândul diferitelor tipuri de organisme: crustacee, pești și mamifere. Sherrington a propus și a citat dovezi pentru integrarea grupurilor de neuroni pe care le-a denumit mase neuronale sau centre reflexe și a sugerat că acestea sunt corelate cu „nuclei” identificabili din punct de vedere anatomic.

Un nucleu este o regiune compactă de substanță cenușie, cu o arhitectură neurală relativ omogenă și limite recognoscibile, care conține o densitate mare de corpuri celulare neuronale și sinapse. (Substanța albă conotează o densitate mare de fibre axonale asemănătoare cablurilor.) Un centru reflex este o asamblare de neuroni care îndeplinesc o funcție specifică. Un nucleu este pur morfologic sau structural, în timp ce un centru este funcțional. Nucleii pot coincide cu centrele, dar adesea nu (Freeman, 1972).

Conceptul de centre neurale poate transmite o impresie eronată a funcției anatomic specifică, dar rămâne o referință vestigială la conceptul lui Sherrington despre sistemul nervos și denotă acum grupuri de neuroni a căror distrugere duce la pierderea unei funcții specifice și/sau a căror stimulare

evocă o anumită funcţie comportamentală sau fiziologică. Funcţiile creierului nu sunt clar împărţite între centre în acelaşi mod în care munca unei organizaţii mari sau a unei fabrici este împărţită între diferitele sale birouri şi ateliere. Relaţia dintre regiunile anatomice dedicate unor funcţii specifice şi distribuţia informaţiilor la nivelul întregului creier este perplexă şi complicată. De exemplu, centrul de saţietate este situat în hipotalamus; dacă această regiune generală este stimulată la un animal care ia o masă, animalul va înceta să mănânce ca şi cum s-ar fi săturat. Dacă aceeaşi structură este distrusă, animalul mănâncă prea mult şi se îngraşă ca şi cum nu s-ar simţi niciodată satisfăcut. Astfel, în mod clar, neuronii centrului de saţietate sunt esenţial legaţi de evocarea senzaţiei de plenitudine sau saţietate. Comportamentul alimentar, totuşi, este reglementat de o gamă mult mai largă de multe circuite neuronale în diferite regiuni. Centrul de saţietate integrează intrări multiple într-o ieşire binară: mănâncă sau nu mânca. Reprezentări corporale, cum ar fi homunculi motori şi senzoriali şi alte dovezi concrete ale localizării anatomice a funcţiei neuronale pot, de asemenea, integra surse largi de intrări distribuite în reprezentări ale senzaţiei şi acţiunii anatomice. Hardware-ul anatomic, cum ar fi centrele de saţietate, homunculi motori şi senzoriali, par a fi adaptări evolutive necesare pentru sisteme nervoase mai mari şi mai complexe.

Sherrington este o figură cheie în istoria neuroştiinţei. Conceptul său de integrare prin centre reflexe a elucidat posibilele moduri de procesare a informaţiilor de către structurile neuronale. Acum se apreciază că funcţiile de transfer de informaţii apar la toate nivelurile de organizare a sistemului nervos şi includ funcţii utilizate acum în computere, cum ar fi suma, declanşatoarele rampă, conversia analog/digital şi logică.

## 4.3.2. Logică de impulsuri

Semnalizarea electrică în sistemul nervos a fost, conform legendei, descoperită în timpul unei demonstraţii oferite de Luigi Galvani unei clase la sfârşitul secolului al XVIII-lea. În timp ce maestrul Galvani diseca o broască, un generator electrostatic (care descărca scântei electrice) era folosit de un student plictisit. De fiecare dată când trăgea o scânteie, piciorul broaştei (ţinut într-o pensă de Galvani) se zvârcolea. Galvani a urmărit această observaţie curioasă şi a publicat tratatul său despre Electricitatea Animală în 1791. Galvani a considerat că electricitatea animală era materialul excitării nervilor şi al contracţiei muşchilor. Doar după moartea sa, adepţii săi au demonstrat că animalele generau într-adevăr proprii curenţi electrici, mai degrabă decât să răspundă doar la electricitatea aplicată (Freeman, 1972).

Dezvoltarea microelectrodului şi a echipamentelor electronice de suport adecvate după 1940 a relevat impulsurile nervoase electrice discrete ca fiind omniprezente în sistemele nervoase central şi periferic. Tehnicile electrofiziologice au oferit o abordare a problemelor complexe prin înregistrarea activităţii celulelor individuale sau a grupurilor mici de celule. De exemplu, evenimentele neuronale implicate în percepţia atingerii au fost studiate prin înregistrarea semnalelor de la un neuron care se termină în piele şi a cărui funcţie - senzaţia tactilă - era lipsită de ambiguitate. Aceste semnale constau din impulsuri electrice scurte, de aproximativ 0,1 volţi amplitudine, durează aproximativ o milisecundă şi se deplasează de-a lungul nervilor cu o viteză de până la 120 de metri pe secundă. Impulsurile electrofiziologice din cadrul "centrelor sherringtoniene" au fost corelate cu forme adecvate de comportament, de exemplu, explozii de descărcări ale neuronilor din formaţiunea reticulară medulară au fost legate de respiraţie. Activitatea neuronală a fost limitată conceptual la acţionarea informaţiilor stocate în regiuni neuronale specifice. Noile abordări au introdus posibilităţile de codificare prin modele dinamice de descărcare neuronală.

În 1943, McCulloch şi Pitts au propus că neuronii ar putea fi descrişi aproximativ prin următoarele ipoteze: 1) activitatea de ieşire a unui neuron este un proces „totul sau nimic”, 2) un anumit număr de sinapse de intrare trebuie să fie excitate într-o perioadă scurtă de timp pentru a excita ieşirea neuronului şi 3) singura întârziere semnificativă în cadrul sistemului nervos este întârzierea sinaptică. Aceşti „neuroni McCulloch-Pitts” conectaţi în reţele ar putea, în teorie, să efectueze orice calcul. Informaţiile semnificative din punct de vedere comportamental („psihoni”) au fost concepute ca modele de potenţial de acţiune în neuronii individuali, la fel cum fusese

considerată anterior descărcarea în masă în „centre”. A fost percepută o structură mai fină a procesării neuronale a informațiilor.

Potențialele de acțiune toate sau niciuna, care erau elementul central al logicii impulsurilor, sunt relativ noi în cursul evoluției, în comparație cu evenimentele de tip undă gradată care apar în rețelele nervoase mai primitive. În bulbul olfactiv, celulele granulare nu au axoni și nu generează deloc potențiale de acțiune detectabile extracelular. Astfel, impulsul nervos nu este singura bază pentru transmiterea între neuroni sau în interiorul neuronilor. Care este substratul de bază al transferului și prelucrării informațiilor în cadrul sistemului nervos? McCulloch (1943) a considerat că:

> ... De ce am ales să cuantific în impulsuri nervoase? ... Dacă ne gândim (la creier) în termenii particulelor sale finale, putem împărți acest lucru la nivel de atomi sau la nivel de neuroni și așa mai departe. Întrebarea este la ce nivel putem diviza comportamentul pentru a defini un set de unități în funcție de care să lucrăm? Și, evident, impulsul nervos la nivelul neuronului este o unitate destul de bună pentru a lucra... . Dar ceea ce caut eu este ceva care să îndeplinească o sarcină logică. Aș dori un lucru care are un grăunte și aș dori să iau acel grăunte ca unitate.

Granulul care ar explica procesarea informațiilor în toate sistemele eucariote este activitatea dinamică a subunităților din proteinele cito scheletice. McCulloch, Pitts și alții au presupus că informațiile erau codificate în modelul și secvența impulsurilor nervoase, oarecum similar codului Morse în liniile telegrafice. Cu toate acestea, Adrian a arătat în 1947 că frecvența de declanșare a unui neuron este o măsură cantitativă a intensității stimulului. Când pielea este apăsată, cu cât este mai mare presiunea aplicată pe piele, cu atât este mai mare frecvența și cu atât mai bine menținută este declanșarea celulei. Codarea frecvenței pare limitată la informații despre intensitatea unui stimul și impulsurile dintr-o celulă dată par identice cu cele din alte celule nervoase. Semnificația și înțelesul sunt destul de specifice pentru fiecare celulă; de exemplu, neuronii senzoriali cutanați indică faptul că o anumită parte a pielii a fost apăsată. Deși nu pare să existe niciun motiv pentru care o mare cantitate de informații nu ar putea fi transmise printr-un semnal predeterminat, inclusiv un cod alcătuit din diferite frecvențe, frecvența sau modelul de descărcare nu par să stea singure ca informații calitative. În urma acestei recunoașteri, sensul unui semnal a devenit atribuit originilor și destinațiilor fibrelor nervoase care îl transmit: "conectivismul". Importanța conexiunilor este exemplificată de senzațiile de lumină produse prin stimularea non-vizuală a globului ocular sau de fenomenul membrului fantomă în care un amputat poate avea senzația unui membru îndepărtat de mult timp. În fiecare caz, reprezentarea mentală este determinată de locația stimulării.

McCulloch și Pitts și-au elaborat modelul prin adăugarea unui termen care includea posibilitatea ca o decizie de declanșare să depindă de intrări mai îndepărtate decât perioada de întârziere sinaptică (memorie dendritică) și prin luarea în considerare a rețelelor neuronale circulare: căi închise cu feedback logic și reverberație. Astfel, logica impulsurilor a evoluat în conexionism și rețele neuronale ca medii de reprezentare a informațiilor neuronale.

### 4.3.3 Conectivism și rețele neuronale

Forma și structura neuronilor și observarea neuroanatomiei au fost puse la dispoziția microscopiei optice de anatomistul italian Camillo Golgi în 1875. Acesta a găsit o metodă prin care, aparent la întâmplare, foarte puțini neuroni dintr-o regiune a creierului se colorează în întregime, toate ramificațiile lor devenind evidente. Citoplasma neuronilor selectați capătă o colorație strălucitoare și este astfel expusă în fața mormanului încâlcit de celule mai puțin vizibile. Contemporanul lui Golgi, spaniolul Santiago Ramon y Cajal (1955), a utilizat colorația Golgi pentru a studia aproape fiecare parte a sistemului nervos al mamiferelor. Textele sale de neuroanatomie sunt încă clasice și el a rezolvat problema dacă nervii sunt entități separate, ca toate celelalte celule, sau fac parte dintr-o rețea continuă. De asemenea, el a demonstrat că conexiunile complexe dintre neuroni nu sunt aleatorii, ci extrem de selective și specifice.

Generațiile ulterioare de neuroanatomiști și neuroembriologi, inclusiv Roger Sperry (1969, 1980), au subliniat detaliile minuțioase cu care se formează conexiunile neuronale și au susținut inițial conceptul de sistem nervos ca dispozitiv logic de impulsuri, înlocuind conceptul mai vechi de creier ca tablou de distribuție al centrelor reflexe. Descoperirea lui Adrian că codificarea impulsurilor neuronale se limitează la un cuplaj frecvență/intensitate a deplasat accentul asupra conexionismului în sine. Deoarece semnalele electrice pe care creierul le utilizează pentru a comunica între celule au fost considerate *stereotipe* sau aproape identice, acestea au fost considerate simboluri care nu seamănă ele însele cu lumea externă pe care o reprezintă. Consensul de opinie cu privire la funcțiile creierului s-a deplasat către un concept în care forma unui neuron și originile și destinațiile fibrelor sale determină reprezentarea mentală ca parte a unei rețele neuronale. Semnificația semnalelor stereotipe a fost considerată a fi derivată din conexiunile specifice ale neuronilor.

Gradul înalt de precizie cu care celulele nervoase sunt conectate între ele și la diferite țesuturi din periferie a fost accentuat în conceptul conexionist. Ordinea conexiunilor formate în timpul dezvoltării a fost considerată esențială pentru integrarea mecanismelor și reprezentarea informațiilor într-un fel sau altul. Sistemul nervos părea a fi construit ca și cum fiecare neuron ar avea integrată în el conștientizarea locului său adecvat în sistem. Întrebarea reprezentării mentale s-a concentrat din nou pe dezvoltarea embriologică în timpul căreia s-au format conexiunile sinaptice. În timpul dezvoltării, neuronul crește spre ținta sa, ignoră unele celule, le selectează pe altele și stabilește contact permanent - nu oriunde pe o celulă, ci cu o parte specifică a acesteia. În plus, neuronii se comportă ca și cum ar fi conștienți atunci când au primit o conexiune sinaptică adecvată. Când își pierd sinapsele, ei răspund în diferite moduri. De exemplu, neuronii sau fibrele musculare deconectate de la contactele lor neuronale pot muri, dar mai întâi dezvoltă „hipersensibilitate" la neurotransmițătorul lor chimic prin intermediul unei abundențe de noi proteine receptoare de membrană sinaptică. Moartea celulară sau disfuncția induse de denervare apar din cauza unei pierderi de „trofism" morfologic, o funcție neurală care transmite material și informații structurale și funcționale prin transportul axoplasmic citoscheletal. Atrofia, distrofia și spasticitatea mușchilor și membrelor care apar după accidente vasculare cerebrale și alte leziuni ale sistemului nervos sunt exemple ale pierderii trofismului normal. Microtubulii și alte proteine citoscheletale responsabile pentru trofism și transportul axoplasmic permit, de asemenea, creșterea și extinderea conurilor de creștere axonală neuronală, a dendritelor și a spinilor dendritici și, astfel, joacă un rol cheie în conexiunile neuronale. Hipersensibilitatea, spasticitatea, atrofia și distrofia sunt exemple de „plasticitate sinaptică", modificări ale conexiunilor sau ale forței de conectare dintre neuroni, care sunt relevante pentru funcția creierului și a corpului.

Asocierea învățării cu alterarea continuă a funcției sinaptice a fost luată în considerare de mai mulți scriitori de la sfârșitul secolului al XIX-lea și a fost popularizată datorită influențelor pavloviene și behavioriste ale răspunsurilor condiționate. Pavlov (1928) a propus că reflexele condiționate sunt stabilite prin formarea de noi conexiuni între neuronii corticali care primesc un stimul condiționat (unul însoțit de o recompensă sau o pedeapsă) și cei care primesc un stimul necondiționat. Odată ce o nouă cale era stabilită, stimulul necondiționat ar dobândi aceeași putere de a evoca răspunsul pe care doar stimulul condiționat îl poseda inițial. Ideea lui Pavlov despre o nouă conexiune s-a contopit cu conceptul lui Donald Hebb (1949) despre schimbările plastice în eficacitatea sinaptică, pentru a corela cu învățarea. Deoarece se credea că fibre noi și, prin urmare, noi conexiuni sinaptice nu ar putea crește la adulți, facilitarea pe termen lung a conexiunilor preformate anatomic, inițial nefuncționale, a devenit alternativa probabilă. Aceasta implica faptul că la naștere existau un număr vast de condiții sinaptice redundante și ineficiente care deveneau „selectate" în timpul experienței de-a lungul vieții individului. O viziune alternativă este că, la naștere, excitațiile pot trece între oricare două puncte ale SNC printr-o rețea aleatorie de conexiuni.

Pe măsură ce au avut loc maturizarea, experiența și învățarea, activitatea sinaptică a sculptat treptat modele utilizabile prin suprimarea interconexiunilor nedorite. Astfel, creierul/mintea conectistă a fost privit ca unul dintre cele două tipuri de sisteme: o foaie albă („*tabula rasa*") în care

învățarea dobândită și organizarea internă rezultă din amprentarea directă a mediului, sau o rețea „selecționistă” aleasă dintr-o rețea potențială mult mai vastă. Selecționiștii cred că creierul/mintea generează spontan modele variabile de conexiuni în timpul perioadelor de dezvoltare din copilărie, denumite „redundanță tranzitorie”, sau din modele variabile de activitate numite prereprezentări la adult. Interacțiunile cu mediul selectează sau stabilizează selectiv modelele preexistente de conexiuni și/sau descărcări neuronale care se potrivesc cu intrarea externă. Selecționiștii mai cred că, ca un corelat al învățării, conexiunile dintre neuroni sunt eliminate (tăiere) și/sau numărul de modele de descărcare accesibile este redus. Sprijinirea unui punct de vedere selecționist este observația că numărul de neuroni și sinapse aparente scade în timpul anumitor etape importante de dezvoltare la copii. Cu toate acestea, această reducere ar putea masca o creștere a complexității în cadrul arborizațiilor dendritice, spinilor, sinapselor și a citoscheletului. Viziunea selecționistă este, de asemenea, susceptibilă la argumentul că *noile* cunoștințe ar părea dificil de încorporat.

Presupunând că modul fundamental de învățare și conștiință în cadrul creierului se bazează pe conexiuni sinaptice între neuroni (viziune conexionalistă), au fost făcute mai multe încercări de a modela învățarea la nivelul ansamblurilor mari de neuroni interconectați. Hebb a fost un pionier în acest domeniu, propunând că învățarea are loc prin întărirea conexiunilor sinaptice specifice în cadrul unei rețele neuronale. Acest lucru a dus la un concept de grupuri funcționale de neuroni conectați prin sinapse variabile. Aceste grupuri funcționale, ca regiuni anatomice ale creierului, au fost descrise de diverși autori drept rețele, ansambluri, carteluri, module sau cristale. Aceste modele sunt ajutate de matematica mecanicii statistice și au fost rejuvenate datorită muncii lui Hopfield (1982), Grossberg (1978), Kohonen (1984) și a altora, care au tras analogii între rețelele neuronale din creier și proprietățile calculatoarelor, ceea ce a condus la aplicații pentru inteligența artificială. Ei au subliniat că proprietățile computaționale utile organismelor biologice sau pentru construirea calculatoarelor pot apărea ca proprietăți colective ale sistemelor care au un număr mare de componente simple echivalente sau neuroni cu un grad ridicat de interconectare. Rețelele neuronale au început ca modele ale modului în care funcționează creierul și au generat acum cipuri și calculatoare construite cu arhitecturi conexionaliste de rețele neuronale, utilizând sute de unități de calcul și conectându-le cu mii de conexiuni. Hopfield (1982) remarcă faptul că cipurile de rețea neuronală pot oferi calcul în detaliu fin și masiv paralel cu:

> o toleranță asemănătoare creierului pentru fapte neclare și instrucțiuni vagi. Unele dintre proprietățile generale ale acestor sisteme sunt izbitor de asemănătoare cu ... proprietățile pe care le vedem în neurobiologie ... . Nu trebuie să le construiești; ele sunt pur și simplu acolo ....

Rețelele neuronale au apărut formal în modelul "*perceptron*" al lui Rosenblatt (1962) din anii 1950 și 1960. *Perceptronii* au creat entuziasm, dar nu au reușit să-și atingă potențialul din cauza limitărilor modelului și a matematicii sale. Experții în inteligența artificială Marvin Minsky și Seymour Papert (1972) au scris o recenzie dur critică care a descurajat cercetarea rețelelor neuronale până la renașterea lui Hopfield în anii 1980. Hopfield a introdus o funcție energetică, astfel încât informațiile dintr-un circuit neuronal să se stabilească într-o serie de stări energetice stabile, la fel ca apa de ploaie care cade pe munți curge prin văi în lacuri și râuri. În funcție de cantitatea de ploaie, o stare de informație (adică memorie, imagine conștientă, gând) ar fi un model de bazin hidrografic dat. Rețelele neuronale ale lui Hopfield se bazează vag pe aspecte ale neurobiologiei, dar sunt ușor adaptate la circuitele integrate. Proprietățile colective ale modelului său produc o memorie adresabilă după conținut (descrisă printr-un flux în spațiul fazelor al stării sistemului) care oferă corect o memorie întreagă din orice sub-parte de dimensiune suficientă. Algoritmul pentru evoluția temporală a stării sistemului se bazează pe procesarea paralelă asincronă. Proprietățile colective emergente suplimentare includ o oarecare capacitate de generalizare, recunoaștere a familiarității, categorizare, corectare a erorilor, reținere a secvențelor temporale și insensibilitate la defectarea componentelor individuale. Rețelele Hopfield și modelele similare sunt cel mai bine categorisite cu viziunea "*tabula rasa*" a învățării, în care starea inițială

este considerată un peisaj energetic plat care devine progresiv conturat, erodat şi complicat de interacţiunile directe cu mediul.

O abordare selecţionistă a teoriei reţelelor neuronale a fost adoptată de Jean Pierre Changeux, care a fost un pionier în descrierea interacţiunilor *alosterice* dintre proteine. Referindu-se la creier/minte, Changeux şi colegii săi (1984, 1985) au propus un model de învăţare prin selecţie bazat pe cele mai recente progrese în mecanica statistică a sistemelor dezordonate, şi anume teoria *sticlelor de spin*. *Sticlele de spin* sunt materiale care nu sunt cristaline, dar ale căror atomi posedă un grad ridicat de relaţii similare între vecini şi un număr finit (adică 2) de stări de spin magnetic influenţate de vecinii lor. Agregatele de stări de "spin asemănător" generează stări similare în rândul vecinilor. În consecinţă, stările de spin ale atomilor într-o *sticlă de spin* pot fi considerate o reţea (sau un automat celular) la fel ca o colecţie de neuroni într-un sistem nervos. Changeux foloseşte, de asemenea, termeni din teoria matematică a haosului, cum ar fi bazine şi atractorii, pentru a descrie stările către care evoluează modelul *sticlei de spin*. Spre deosebire de abordarea "*tabula rasa*", starea iniţială a creierului este considerată de Changeux ca o peisaj energetic complex, cu o exuberanţă de văi tipice *sticlelor de spin*. Fiecare vale corespunde unui anumit set de neuroni activi şi joacă rolul unei pre-reprezentări. Un model de intrare stabileşte o configuraţie iniţială care converge către o vale a cărei prag de intrare este redus prin modificarea sinaptică. Plecând de la o distribuţie ierarhică a văilor, cele mai "joase" văi (fiordurile la nivelul mării) ar corespunde unei înţelegeri maxime, răspunsului final, celei mai bune corelaţii. Procesul de învăţare este considerat o netezire, un grădinărit şi o tăiere evoluţionistă, deoarece informaţiile deja stocate influenţează pre-reprezentările disponibile pentru următorul eveniment de învăţare. Modelul *sticlei de spin* al reţelelor neuronale al lui Changeux este elegant şi prezintă cu succes un model ierarhic de sortare a informaţiilor statice. Defectele sale sunt că este unidirecţional şi nu reuşeşte să descrie procesarea dinamică a informaţiilor, "în timp real".

Un alt model de reţea conexiţionistă selectivă de învăţare este cel al lui George Reeke şi Gerald Edelman (1984) de la Universitatea Rockefeller. Ei descriu două reţele paralele de automatizare a recunoaşterii care comunică lateral. Automatele sunt modele dinamice de interacţiuni de vecinătate capabile de procesare a informaţiilor (Capitolul 1). Cele două automate paralele de recunoaştere pe care le-au conceput Edelman şi Reeke au personalităţi distincte şi complementare. Ele sunt numite Darwin şi Wallace, după co-creatorii teoriei evoluţiei, şi utilizează abordări diferite ale problemei recunoaşterii. "Darwin" este extrem de analitic, cheie la recunoaşterea marginilor, dimensiunilor, orientării, intensităţii, culorii etc. "Wallace" este mai "*gestalt*" şi încearcă doar să categorizeze obiecte în clasificări preconcepute. Ca în toate sistemele de procesare paralelă, ieşirea procesoarelor individuale trebuie reconciliată dacă nu sunt identice. Reţelele de comunicare laterală dintre Darwin şi Wallace rezolvă ieşirea conflictuală şi formează o memorie asociativă. Deoarece operează pe o reţea conexiţionistă neschimbătoare, Darwin şi Wallace sunt consideraţi "selecţionişti". Automate de recunoaştere similare pot opera în reţele citoscheletale dinamice în interiorul neuronilor.

## 4.3.4. Distribuirea

Aprecierea neuroanatomică a structurii sinaptice a dat crezabilitate teoriei conexiţioniste şi i-a permis lui Hebb să extindă teoria reţelelor neuronale discrete, asamblate sinaptic, la memorie şi comportament la oameni. Cu toate acestea, singurele date experimentale au provenit de la 30 de ani de muncă a lui Karl Lashley (1929, 1950), care arătase că memoria şi percepţia par a fi distribuite în tot creierul. Căutarea lui Lashley a fost locul de reprezentare — "engrama" — a informaţiilor, memoriei şi comportamentului învăţat în creierele animalelor de laborator.

Experimentelele lui Lashley în căutarea *engramei* au constat în ablaţia unor părţi specifice ale creierelor animalelor, cu testări atente pentru reţinerea obiceiurilor învăţate înainte de ablaţie, capacitatea de a reînvăţa şi capacitatea de a învăţa sarcini noi. Concluzia generală a fost că funcţia de memorie este perturbată proporţional cu cantitatea de cortex distrus, indiferent de partea cortexului care a fost îndepărtată. În ceea ce priveşte învăţarea, Lashley a considerat că toate părţile cortexului erau echipotenţiale, cu excepţia zonelor specifice de primire senzorială implicate în acea

modalitate de învățare particulară. Constatările lui Lashley au fost o dezamăgire pentru conexioniști și au generat o perspectivă sumbră, fără speranță. În celebra sa lucrare de o viață, *In Search of the Engram* (În căutarea engramei), Lashley (1950) a scris că, după 30 de ani de căutare a locației *engramei* în creier, era convins că "învățarea pur și simplu nu este posibilă. Cu toate acestea, în ciuda tuturor dovezilor contrare, învățarea se produce uneori". Lashley s-a ridicat din disperare pentru a propune o alternativă la stocarea localizată a urmelor de memorie atașate căilor reflexe fixate spațial. Fiind de acord că evocarea implică reactivarea unui model anterior de excitație neuronală, el a insistat că modelul care reprezintă orice memorie nu poate fi evocat doar într-un set specific de neuroni, ci în multe seturi, în multe locuri și, probabil, oriunde în regiunile creierului care au legătură cu funcția de memorie. Această distribuție a informațiilor în memorie a fost explicată de Lashley ca modele excitatorii în cortex legate de răspândirea modelelor de interferență pe suprafața unui lichid perturbat în mai multe puncte simultan. (Teoria sa privind modelele de interferență a inspirat ulterior comparații între creier, stocarea informațiilor și holografia cu laser). Lashley (1929):

> Impulsurile nervoase sunt transmise ... prin conexiuni intercelulare definite, totuși tot comportamentul pare să fie determinat de mase de excitație ... în cadrul câmpurilor generale de activitate, fără a ține cont de celulele nervoase particulare. Modelul, și nu elementul, contează.

Hebb (1949) a comentat:

> Lashley a ajuns la concluzia că o discriminare învățată nu se bazează pe excitarea anumitor celule nervoase. Se presupune că este determinată numai de modelul sau forma excitației senzoriale ... acest lucru sugerează că „urma mnemonică”, schimbarea neuronală care este indusă de experiență și constituie memoria, nu este o schimbare de structură .... [este] un model durabil de activitate reverberatorie fără loc fix, precum o formațiune de nori sau un vârtej într-un iaz de moară.

"Engramă" a fost descrisă inițial ca fiind urma "mnemotică" a creierului a unei idei elementare, ca și cum ar fi atomul conținutului mental. O propunere anterioară a fost că o engramă era stocată în modelul de ardere al unui neuron cortical: un "psihon" în interiorul unui neuron "bunic" la vârful unei ierarhii neuronale. Logica pulsului a văzut "psihoni" (sau engrame) în modelele de descărcare ale neuronilor, iar rețelele neuronale conexioniste au egalat engramele cu circuite specifice de neuroni conectați sinaptic. Activitatea din cadrul acestor circuite era considerată a reprezenta conștiința și memoria, care ar ocupa locații specifice în creier. Memoria a fost privită ca biblioteci, dulapuri de arhivare, computere digitale și cutii de gunoi în care informațiile erau stocate în anumite locuri, iar recuperarea implica găsirea locului unde erau stocate. Experimentele lui Lashley au sugerat că informațiile nu sunt stocate nicăieri în mod specific, ci mai degrabă sunt stocate peste tot; memoria era distribuită. O interpretare prevalentă era că informațiile erau stocate în relațiile dintre unități și că fiecare unitate participa la codificarea multor, multe memorii. Astfel, informațiile puteau fi distribuite pe zone spațiale mari. Cu o memorie distribuită, urme individuale din cadrul unui complex de urme pot fi găsite, la fel ca modul în care filtrele pot extrage componente de frecvență individuale din forme de undă acustice complexe. Filtrele pot detecta prezența unor frecvențe specifice chiar și atunci când sunt complet împletite cu altele. Prin urmare, un sistem de memorie filtrat, distribuit poate funcționa ca un dispozitiv de stocare și recuperare. Dacă memoriile nu sunt independente una de cealaltă, stocarea unei memorii poate afecta o alta. Informațiile stocate anterior tind să evoce un model original de activitate, chiar dacă intrările în sistem pot diferi în multe detalii. Această descriere este similară cu conceptul de hologramă, în care undele de referință coerente sunt necesare pentru a recupera informații dintr-un model de interferență.

Lashley (1950):

Nu este posibil să se demonstreze localizarea izolată a unei urme de memorie oriunde în sistemul nervos. Regiuni limitate pot fi esențiale pentru învățarea sau reținerea unei anumite activități, dar în cadrul acestor regiuni părțile sunt echivalente din punct de vedere funcțional. Engrama este reprezentată în întreaga zonă. Toate celulele creierului trebuie să fie într-o activitate aproape constantă, fie că funcționează, fie că sunt inhibate activ. Fiecare moment de reamintire înregistrează activitatea a milioane de neuroni. Aceiași neuroni care păstrează urmele memoriei unei experiențe trebuie să participe și la nenumărate alte activități.

Reamintirea implică o acțiune „sinergică” sau un fel de rezonanță între un număr foarte mare de neuroni ...

Punctul de vedere al lui Hebb cu privire la reprezentarea engramelor era o buclă închisă de neuroni care ard într-o regiune restrânsă. Studiile lui Lashley l-au determinat să sugereze o rețea deschisă, paralelă, distribuită, care acoperă regiuni largi ale creierului. Legătura lui Hebb între învățare și eficacitatea sinaptică a depășit acest conflict, deoarece se referea la ambele concepte, care pot funcționa și în cadrul rețelelor citoscheletice.

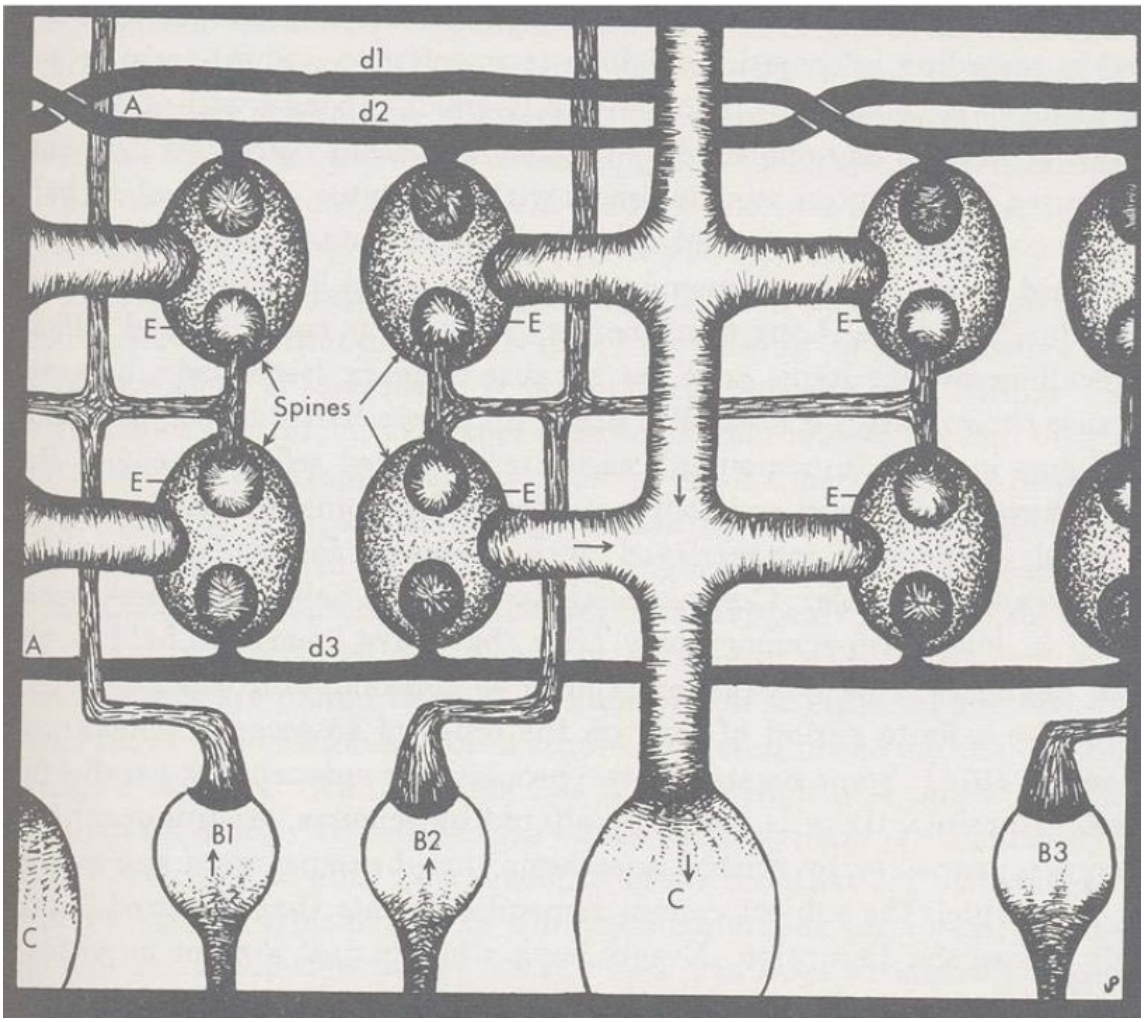


*Fig. 4.3: Bancă de memorie cerebrală bazată pe noțiunile „convenționale” de sinapse ale spinilor dendritice. Liniile de intrare ($B_{1-3}$) sunt axoni care se ramifică și fac sinapsă pe spinările dendritice (E) conectate la liniile de ieșire (C). „Liniile de descărcare a fișierelor” (A, $d_{1-3}$) direcționează activitățile coloanei vertebrale către «copiere» sau „descărcare”. "O astfel de configurație permite fiecărei coloane vertebrale să dețină aproximativ 3 biți de informație, un număr remarcabil de mic în comparație cu capacitățile unor biomolecule precum ADN-ul sau microtuburile. Activitățile citoscheletice din cadrul spinilor dendritici pot contribui la aceasta. De Paul Jablonka*.

## 4.3.5. Mecanismele sinaptice ale învățării și memoriei

Procesele de memorie au fost împărţite în mod tradiţional în două clase: termen scurt şi termen lung. Memoria pe termen scurt, sau memoria de lucru, este, aparent, modul în care ne amintim numerele de telefon din momentul în care le căutăm în director până când le formăm. Memoria pe termen lung sau memoria de referinţă este utilizată la înregistrarea informaţiilor pentru referinţă pe termen lung. Memoria pe termen scurt sau memoria de lucru are o capacitate relativ mică, cu un maxim de 5 până la 9 elemente în orice moment. Este labilă şi uşor de perturbat dacă atenţia este distrasă şi se şterge automat în câteva minute. Repetiţia verbală continuă contracarează ştergerea şi reintroduce conţinutul ca memorie pe termen lung. Odată stabilită, memoria pe termen lung poate dura mult timp - poate o viaţă de om. Memoria pe termen lung are o capacitate mare, iar dificultatea de a rechema anumite elemente apare nu pentru că urmele memoriei dispar, ci mai degrabă pentru că adresa lor este pierdută. Rutele de acces bine exersate la elementele de memorie pe termen lung includ „mnemonice", indicii de referinţă uşor de reţinut. Articolele care au fost stocate şi apoi nu au fost utilizate vor deveni din ce în ce mai greu de rechemat. Odată ce sunt recuperate, astfel de amintiri aparent uitate devin din nou accesibile. Înţelepciunea convenţională a susţinut că articolele devin stocate în memoria pe termen lung numai după ce au fost mai întâi păstrate în memoria pe termen scurt. Acesta este un proces cunoscut sub numele de consolidare, care se presupune că necesită o perioadă finită de timp de ordinul a 45 de secunde (Cherkin şi Harroun, 1971). Unii consideră cele două procese ca funcţii paralele independente. Dacă activitatea cerebrală este modificată semnificativ de convulsii, traume care duc la inconştienţă sau de anestezie generală, poate apărea fenomenul de amnezie, în care subiectul nu îşi poate aminti evenimentele care au avut loc imediat înainte de întrerupere. Evenimentele din trecut nu sunt uitate de astfel de intervenţii. O explicaţie este că memoria pe termen scurt depinde de un proces dinamic, cum ar fi circulaţia continuă a impulsurilor într-un model care, atunci când este întrerupt, este şters. Conform acestei scheme, amintirile pe termen lung sunt stocate printr-o schimbare de durată în neuroni sau în conexiunile dintre ei, care nu ar fi afectate de astfel de tulburări. O analogie cu jargonul computerului ar sugera că un program software devine „*hardwired*". Alte modele ale procesului de memorie descriu mai mult un continuum în procesul de consolidare împărţit în trei sau cinci etape sau mecanisme complet diferite, cu metode variabile de intrare, capacităţi de stocare, durată de viaţă şi accesibilitate. Alte modele consideră toate funcţiile de memorie ca fiind acelaşi mecanism de bază, diferind doar prin caracteristici secundare.

Învățarea este legată de memorie; învățarea unei sarcini complexe implică probabil generarea unui model adecvat pentru stocarea memoriei. De exemplu, imaginea feţei unei persoane poate fi reamintită prin excitarea neuronilor într-un model similar cu cel generat atunci când acea faţă a fost percepută efectiv. Abilitatea de a da cu racheta la tenis implică existenţa unui program sau model pentru activarea muşchilor în secvenţa şi gradul adecvat. Dobândirea unor astfel de programe neuronale a fost atribuită modificărilor funcţionării sinapselor dintre neuroni specifici (Figura 4.3). Modificările structurale care duc la modificarea funcţiei şi sensibilităţii conexiunilor sinaptice interneuronale sunt piatra de temelie a conceptelor actuale de învăţare şi memorie. Clasificările tipurilor de modificări plastice care ar putea apărea în sinapse includ habituarea, potenţierea pe termen lung şi potenţierea heterosinaptică.

Habituarea la un răspuns este cea mai simplă formă de învăţare. Când un animal aude un sunet nou, acesta poate reacţiona ridicând urechile, arătând o formă de atenţie. Dacă sunetul este repetat continuu, animalul învaţă că sunetul sau stimulul nu este nici ameninţător, nici interesant şi devine „obişnuit" cu acesta. Habituarea este diferită de alte forme de scădere a răspunsului, cum ar fi oboseala sinaptică sau desensibilizarea şi este specifică pentru stimul şi intensitatea acestuia. Dacă stimulul de habituare este reţinut pentru o perioadă de timp şi prezentat din nou, răspunsul reapare („de-habituare"). Habituarea la stimuli nocivi nu are loc, iar atunci când stimulii non-nocivi şi nocivi sunt asociaţi, nu există habituare la niciunul dintre cele două. Mecanismul de habituare a fost studiat în detaliu la organismul marin *aplysia*, sau limaxul de mare. Limaxul de mare are un „reflex de retragere a branhiilor", care este convenabil pentru studiu. Când pielea sifonului limaxului este stimulată, animalul îşi retrage branhiile. Acest răspuns arată habituare, de-habituare

și alte caracteristici tipice ale răspunsurilor mamifere mai complexe. Rețeaua neuronală care mediază acest răspuns reflex a fost cartografiată pe larg și sinapsele participante au fost studiate electric. Habituarea retragerii branhiilor ar fi putut fi rezultatul multor procese, inclusiv inhibiția sinaptică, dar, de fapt, s-a demonstrat că este rezultatul scăderii producției de neurotransmițător excitator la terminalele axonale presinaptice care mediază reflexul de retragere. Neurocercetătorul Eric Kandel (1976) de la Universitatea Columbia a arătat că habituarea este diferită de oboseala obișnuită, nu implică epuizarea transmițătorului disponibil și este legată de scăderea fluxului de ioni de calciu prin canalele de calciu presinaptice. Astfel, un răspuns comportamental a fost legat în mod elegant de evenimente de nivel molecular. Activitatea canalelor de calciu presinaptice și a altor proteine neuronale au fost considerate „alosterice” - o capacitate de a integra spațial și temporal multiple semnale convergente la o stare specifică a proteinei, sau „conformație”.

A doua formă de plasticitate neuronală este potențarea pe termen lung (LTP). În LTP, utilizarea repetată a unei sinapse face ca transmiterea prin acea sinapsă să fie din ce în ce mai ușoară. În sinapsele hipocampului creierului mamiferelor, efectul durează multe ore, iar LTP a fost legată în mod clasic de învățare și memorie. Dacă două căi partajează un interneuron, atunci LTP poate îmbunătăți transmisia prin calea care nu a fost inițial excitată, o formă de memorie asociativă și evocare. Durata efectului LTP de multe ore până la zile corespunde cu turnoverul morfologic și întreținerea trofică a proteinelor de membrană sinaptice prin transport axoplasmic, o funcție a citoscheletului neuronal.

A treia formă de plasticitate neuronală este potențarea heterosinaptică, în care activitatea pe o sinapsă modifică eficiența transmiterii în alta pe aceeași membrană postsinaptică. Aceasta poate apărea fie prin modificarea sensibilității neuronului postsinaptic la transmițător, fie prin modificarea cantității de transmițător eliberat. Există unele dovezi că LTP poate fi datorată unui număr crescut de receptori în membranele postsinaptice și un mecanism similar ar putea apărea în potențarea heterosinaptică în care sunt implicați mai mulți neuroni. Habituarea, potențarea pe termen lung și potențarea heterosinaptică pot explica plasticitatea sinaptică și unele aspecte ale învățării și memoriei. Procesele cerebrale legate de reprezentare, memorie, învățare și conștiință se concentrează, așadar, pe modificările de nivel molecular ale proteinelor membranei sinaptice, care sunt reglementate de citoscheletul neuronal.

Există unele dovezi ale implicării directe a citoscheletului în procesele cognitive. Activitățile microtubulilor citoscheletici și turnover-ul subunităților de microtubuli ("tubulină") s-a demonstrat că cresc în creier în timpul specific al învățării, memoriei și experienței. Mileusnic, Rose și Tillson (1980) au utilizat un model de învățare la puii de găină care pot fi ușor antrenați să nu ciugulească o mărgea strălucitoare acoperită cu o substanță cu gust neplăcut. Acești autori au studiat unele dintre corelatele neurochimice ale acestei "învățări prin evitare pasivă" și subliniază că tubulina, componenta principală a microtubulilor, este prezentă în cantități mari în creierul în dezvoltare al puilor de găină. Cantități semnificative de tubulină sunt asociate cu membranele sinaptice, conducând autorii la concluzia că orice model de învățare și memorie care postulează modularea structurii sinaptice, în concordanță cu postulatele lui Hebb, trebuie să implice tubulina în învățare. Alte lucrări din laboratorul lor și din alte laboratoare au arătat că atât încorporarea aminoacizilor precursori, cât și cantitatea totală de tubulină pot fi îmbunătățite prin experiență și învățare în timpul dezvoltării timpurii.

John Cronly-Dillon și colaboratorii (1974) de la Universitatea Manchester din Marea Britanie au descoperit că, atunci când șobolanii bebeluși își deschid pentru prima dată ochii, genele din cortexul vizual încep brusc să producă cantități vaste de tubulină, care, probabil, formează microtubuli implicați în stabilirea unor noi conexiuni sinaptice. Când șobolanii au 35 de zile, faza critică pentru învățare s-a încheiat și producția de tubulină este redusă drastic. Concluzia lor este că turnover-ul tubulinei și activitatea microtubulilor sunt implicate în aspectele de plasticitate sinaptică ale învățării și memoriei.

Francis Crick (1982) a propus un alt mod dinamic de plasticitate sinaptică axat pe spinii dendritici. Acesta a sugerat că spinii dendritici se pot „contracta” și își pot schimba forma, modificându-și astfel pragurile sinaptice prin schimbări mecanice. Plasarea și arhitectura spinilor

dendritici sunt determinate de microtubuli, dar spinii în sine sunt compuși în principal din actină contractilă (Matus, Ackermann, Pehling, Byers și Fujiwara, 1982). Plasticitatea dinamică a coloanei vertebrale, orchestrată de MT dendritice și de citoschelet, poate fi un mecanism important al memoriei pe termen scurt și o legătură între citoschelet și rețelele neuronale la nivel sinaptic. O altă legătură este transportul axoplasmatic care menține și alimentează forma și funcțiile spinilor dendritici și ale tuturor sinapselor și structurilor neuronale.

## 4.3.6. Transportul axoplasmatic

Proteinele membranare sinaptice, inclusiv canalele ionice și receptorii, structurile proteice citoscheletice care expulzează veziculele de neurotransmițători, organite, inclusiv mitocondriile, și enzimele necesare pentru sinteza și metabolismul transmițătorilor sunt fabricate numai în corpurile celulare ale neuronilor, unde există mecanisme biochimice pentru sinteza și asamblarea proteinelor (aparatul Golgi și ribozomii). Aceste materiale sau precursorii lor sunt apoi transportate prin axon (sau dendrită) la terminația nervoasă printr-un mecanism citoscheletic similar unei benzi transportoare sau unei brigăzi de găleți. Fotografiile cu efect de timp ale neuronilor în cultură celulară arată mitocondrii (organite mari care produc energie chimică sub formă de ATP) plutind de-a lungul axonilor ca șalupe pe un râu. Tehnologia recentă, cum ar fi microscopia cu contrast îmbunătățit video (Allen, 1987), a arătat veziculele alunecând de-a lungul microtubulilor pe suprafețele axoplasmei extrase din neuronii de calmar. Transmițătorii sunt sintetizați în întregul neuron, deoarece enzimele care catalizează formarea transmițătorilor se mișcă de-a lungul aparatului citoscheletic de la corpul celular la terminal. Cea mai mare activitate enzimatică și concentrațiile de transmițători sunt atinse în boutonii terminali. Astfel, plasticitatea unei sinapse, eficacitatea, rapiditatea și pragul acesteia, care par să regleze învățarea și memoria în rețelele neuronale în timp, depind toate de transportul axoplasmic.

Mai multe procese separate și independente de transport axoplasmic au fost identificate prin urmărirea mișcării diferiților trasori. Cele mai rapide se mișcă cu o viteză de 400 milimetri pe zi (aproximativ 500 nanometri pe secundă), cele mai lente cu greu un milimetru pe zi. Părțile mecanice ale sistemului sunt microtubulii și proteinele contractile atașate la locuri specifice pe pereții microtubulilor. Aceste proteine contractile (dineină sau kinesină) utilizează energie chimică sub formă de hidroliză ATP pentru a se contracta în secvențe orchestrate de activitate a brigăzii de găleți. Ceea ce nu este înțeles este mecanismul prin care microtubulii orchestrează activitățile secvențiale cooperative ale proteinelor contractile atașate. Fluxul principal de transport axoplasmic poate fi oprit de medicamente precum colchicina, care depolimerizează microtubulii. Transportul axoplasmic curge, în general, de la corpul celular spre vârfurile fibrelor. În nervii motorii, transportul axoplasmic curge în aceeași direcție cu traficul de impulsuri; în neuronii senzoriali primari, curge în direcția opusă impulsurilor senzoriale. În dendrite, fluxul principal este, de asemenea, de la corpul celular la periferie. Acestea sunt toate exemple de flux axoplasmic anterograd. Există, de asemenea, transport simultan în direcția opusă către corpul celular, numit flux axoplasmic retrograd, care, aparent, aduce informații de feedback la mecanismul celular pentru a regla producția de enzime transmițătoare și alte materiale. De asemenea, ar putea returna constituenți celulari uzați sau defalcati pentru a fi reciclați. Aceste mecanisme de feedback trofic creează neuroni dinamici capabili să schimbe forma și funcția ca o adaptare la experiența în curs, fără pierderea excesivă a informațiilor vechi. Sinapsele, spinii dendritici, modelele ramurilor dendritice și proteinele membranare se schimbă continuu, totuși amintirile pe care le conțin sunt cumva menținute de citoscheletul mereu prezent și în continuă schimbare.

## 4.3.7. Paralelism, cooperativitate colectivă și granulația engramului

Sinapsele de la neuron la neuron funcționează la nivel de milisecunde, în timp ce calculatoarele moderne de mare viteză funcționează cu comutatoare semiconductoare care funcționează la nivel de nanosecunde. Cu toate acestea, creierul este capabil, în câteva sute de milisecunde, să realizeze performanțe de procesare care sunt imposibil de imitat în sute de minute

de timp pe calculator. Presupunerea este că creierul realizează această performanţă prin funcţionarea simultană a foarte multor componente paralele.

Modele paralele, distribuite de organizare a minţii colective au fost propuse de doi autori notabili, provenind din orientări diferite. Michael Gazzaniga (1985) este unul dintre primii cercetători care au lucrat cu pacienţi cu "creierul divizat", la care corpul calos secţionat a separat emisferele dreaptă şi stângă. El susţine că minţile constau din colecţii mari de părţi mai mici, semiautonome, cu comunicare limitată între ele. Gazzaniga a dezvoltat dovezi convingătoare că minţile noastre sunt "modulare"; ele sunt organizate în unităţi funcţionale relativ independente, care funcţionează în paralel. Mintea nu operează într-un singur mod pentru a rezolva probleme, ci are multe unităţi diferit identificabile care contribuie la structura noastră conştientă în moduri care pot fi uneori izolate prin experimente ingenioase. Module specifice ar putea fi dedicate recunoaşterii feţelor şi a imaginilor vizuale, interpretării limbajului şi a ceea ce Gazzaniga numeşte un "motor de inferenţă". Situat în emisfera dominantă a creierului, aproape de modulul de interpretare a limbajului, motorul de inferenţă este considerat a "coordona" conştiinţa. Aceste module pot fi comparate cu cele descrise de Pribram sau cu "cartelurile" descrise de Freeman şi reprezintă un nivel de ierarhie organizaţională a creierului imediat sub cel al întregului creier. Gazzaniga corelează liberul arbitru cu o caracteristică de bază a organizării creierului şi sugerează că însăşi credinţa particulară în liberul arbitru derivă din teoria modulară a minţii. El observă că interpretăm continuu comportamentele produse de module cerebrale independente ca fiind comportamente produse de "sine". Concluzionăm că acţionăm liber, în timp ce, la rădăcina acestui lucru, nu ştim cu adevărat de ce facem aproape orice. Această noţiune poate fi comparată cu conceptul conexionist paralel (adică "Darwin" şi "Wallace") care necesită un vot sau un *caucus* pentru a determina o ieşire rezumativă. Gazzaniga afirmă, de asemenea, că fenomenele cognitive de bază, cum ar fi dobândirea şi păstrarea credinţelor sociale, sunt la fel de mult un produs al organizării creierului uman ca şi dorinţele noastre behavioriste de a mânca, dormi şi face sex. El susţine că suntem "programaţi să avem credinţe".

O concluzie comparabilă a fost atinsă de Marvin Minsky (1986). *"În Societatea minţii"* (The Society of Mind), patriarhul AI discută mintea ca un număr vast de "agenţi". Informaţiile sunt reprezentate de "cadre" care sunt multiple noduri de cunoştinţe conectate. Minsky aruncă o reţea mult mai complexă de agenţi peste minte decât modulele lui Gazzaniga, dar amândoi descriu niveluri de organizare între nivelul sinaptic neuronal şi întregul creier, care sunt mai mult sau mai puţin reprezentative pentru teoria reţelelor neuronale. Gazzaniga argumentează că creierul este mai mult o entitate socială decât una psihologică. În loc să fie un întreg indivizibil, aşa cum se credea odată, este o vastă confederaţie de module relativ independente, fiecare dintre acestea procesând informaţii şi activând propriile gânduri şi acţiuni. Dar ce sunt modulele? Unde este granulaţia conştiinţei? Nu este mintea mai mult decât un şir de module ce se ceartă?

John O'Keefe şi Andrew Speakman (1986) de la University College din Londra au finalizat o serie de experimente privind activitatea neuronilor hipocampici la şobolani, în timp ce animalele efectuau sarcini de memorie spaţială de lucru. Aceste rezultate şi altele sugerează o hartă cognitivă hipocampică în care reprezentarea locului într-un mediu este distribuită pe suprafaţa hipocampului. O'Keefe şi Speakman constată că granulaţia reprezentării este la sau sub nivelul unei singure celule. Adică, fiecare celulă dintr-un cluster mic participă la reprezentarea diferitelor zone ale mediului. În mod invers, orice cluster de aproximativ 8 până la 10 celule pare adecvat pentru a oferi o reprezentare grosieră a unui mediu întreg. Adăugarea mai multor celule la reţea creşte rezoluţia, sau granulaţia reprezentării, dar nu o modifică. Reprezentarea unui mediu este, aşadar, distribuită, iar "granulaţia" este la un nivel sub cel al nervilor şi sinapselor individuale. E. R. John şi colegii (1986) de la New York University au folosit cartografierea metabolică a urmelor de memorie la pisici pentru a arăta că informaţiile sunt distribuite pe scară largă, necesitând ca "(celulele nervoase) să participe la multiple memorii". Aceştia implică:

> ... procese cooperative în care comportamentul nealeatoriu al unor ansambluri uriaşe de elemente neuronale mediază integrarea şi prelucrarea informaţiilor şi recuperarea

amintirilor. Memoria şi conştientizarea în sistemele neuronale complexe pot depinde de proprietăţi nerecunoscute în prezent ale sistemului ca întreg.

Walter Freeman (1972, 1983) de la Universitatea California din Berkeley este de acord că sistemele nervoase sunt mai mult decât suma părţilor lor. Potrivit lui Freeman, acest lucru se întâmplă deoarece interconexiunile unui număr de neuroni dau naştere unor proprietăţi colective care aparţin mai degrabă populaţiilor neuronale în general decât neuronilor individuali specifici. Freeman consideră că astfel de proprietăţi colective legate de procesele mentale sunt generate de interconectarea unui număr de neuroni de cel puţin zece mii sau mai mult.

Freeman şi alţii care susţin aspectele colective cooperative ale proceselor mentale citează electroencefalograma (EEG) ca dovadă de susţinere. EEG este o undă electromagnetică continuă care pătrunde în creier şi este compusă din frecvenţe de la un hertz (= Hz = cicluri pe secundă) până la câteva mii Hz, dar concentrată în intervalul dintre 3 şi 50 Hz (Capitolul 7). EEG a fost folosit de o jumătate de secol pentru a diagnostica boli ale creierului, dar abia în anii 1960 a fost clarificată sursa „undelor cerebrale". EEG nu provine din suma potenţialelor de acţiune propagatoare în axoni, ci mai degrabă din potenţialele lente, gradate produse de dendrite şi corpurile celulare. Potenţialele locale se combină pentru a forma modele regionale şi la nivelul creierului. Neuroni individuali şi dendritele lor intră şi ies din fază cu câmpul EEG înconjurător. Studiile lui Adey (1977), John (1980) şi mulţi alţi oameni de ştiinţă au corelat activităţile mentale la animale şi oameni cu schimbările modelelor EEG. Deoarece EEG este produs de un număr mare de neuroni, aceste corelaţii pot sugera că efectele neuronale colective sunt baza activităţilor mentale. Freeman propune ca fenomenele semnificative din punct de vedere funcţional ale undelor EEG să apară în masele neuronale în care există o conexiune de feedback a unui neuron cu mulţi alţii în aceeaşi masă. Undele colective de potenţiale gradate sunt candidatul lui Freeman pentru granulaţia conştiinţei. Activitatea undelor localizate în masele neuronale sau „carteluri" ar fi legată de undele EEG în acelaşi mod în care undele de temperatură şi presiune atmosferică generează modele de nori - efecte secundare observabile care pot oferi informaţii despre dinamica internă.

Opiniile cu privire la semnificaţia câmpurilor de unde EEG colective locale variază de la epifenomene superflue, la transmiţătoare de informaţii, la substanţa însăşi a conştiinţei. E. R. John (1984) este probabil cel mai puternic susţinător; el subliniază că neuronii individuali sunt sensibili la câmpurile pe care le generează. Adey (1984) şi colegii săi au aplicat câmpuri „asemănătoare EEG" creierelor animalelor de experienţă şi au descoperit că acestea produc efecte comportamentale. John propune ca un câmp electromagnetic specific să fie evocat de stimuli senzoriali şi „rezonează" cu modele similare stocate în memorie. Noile modele aduc noi rezonanţe care conduc, conform lui John, la fluxul experienţei conştiente. Modelele de unde modifică structura neuronală, formând amintiri care vor fi evocate de rezonanţe ulterioare. E. R. John (1980) afirmă că:

> Conştiinţa este o proprietate a acestor distribuţii improbabile de energie în spaţiu şi timp, la fel cum gravitaţia este o proprietate a materiei.

## 4.4. Către Conştiinţa Moleculară

Cum este cuplată energia undelor electrice la structura neuronală şi ce structuri neuronale sunt cele mai potrivite pentru cuplarea şi reprezentarea conţinutului cognitiv? Recunoaşterea simultană (şi cuplarea prin cooperare) de către un număr mare de elemente neuronale necesită schimbări rapide în starea chimică a macromoleculelor distribuite pe scară largă. Candidaţii probabili sunt proteinele „alosterice" care pot transduce semnalele de reglementare (legarea moleculelor, ionii/aciditatea, câmpurile de tensiune etc.) pentru a suferi modificări conformaţionale funcţionale. Hyden (1977) a propus iniţial că proteinele îşi schimbă rapid conformaţia ca răspuns la câmpuri electrice slabe, oscilante. W. Ross Adey (1977) a elaborat cuplul dintre conformaţia şi funcţia proteinelor neuronale şi undele EEG. El a sugerat că reţelele de glicoproteine hidratate (care se extind din membranele neuronale în spaţiul extracelular), proteinele membranare şi citoscheletul

sunt pregătite pentru a suferi schimbări rapide de conformație ca răspuns la modele EEG spațio-temporale localizate și selective, precum și la semnale biochimice. Transducerea energiei electromagnetice în stări conformaționale de către proteine distribuite pe scară largă poate reprezenta în mod cooperativ informații dinamice.

Firul comun al inteligenței biologice, „grăuntele engramei”, poate fi găsit în dinamica cooperativă a unei rețele moleculare a cărei structură și funcții par perfect adaptate prelucrării informațiilor: citoscheletul. răspuns la câmpuri electrice slabe, oscilante. W. Ross Adey (1977) a elaborat cuplul dintre conformația și funcția proteinelor neuronale și undele EEG. El a sugerat că rețelele de glicoproteine hidratate (care se extind din membranele neuronale în spațiul extracelular), proteinele membranare și citoscheletul sunt pregătite pentru a suferi modificări rapide de conformație ca răspuns la modele EEG spațio-temporale localizate și selective, precum și la semnale biochimice. Transducerea energiei electromagnetice în stări conformaționale de către proteine distribuite pe scară largă poate reprezenta în mod cooperativ informații dinamice.

Firul comun al inteligenței biologice, „grăuntele de engramă”, poate fi găsit în cadrul dinamicii cooperative a unei rețele moleculare a cărei structură și funcții par perfect adaptate la prelucrarea informațiilor: citoscheletul.

# 5. Citoschelet/Citocomputer

Organismele vii sunt ansambluri colective de celule care conţin ansambluri colective de material organizat numit protoplasmă. La rândul său, protoplasma este formată din membrane, organite, nuclee şi mediul interior masiv al celulelor vii: citoplasma. Reorganizarea dinamică a citoplasmei în cadrul celulelor eucariote explică schimbarea formei acestora, repoziţionarea organitelor interne şi, în multe cazuri, deplasarea dintr-un loc în altul. Acum ştim că citoscheletul, o reţea dinamică de proteine filamentoase, este responsabil de organizarea citoplasmei (figurile 5.1 - 5.3).

## 5.1. Natura citoplasmei

Natura citoplasmei a fost studiată ştiinţific timp de cel puţin un secol şi jumătate Această istorie a fost descrisă de Beth Burnside (1974) în cadrul unei reuniuni de referinţă dedicată citoscheletului la Academia de Ştiinţe din New York.

Un observator francez timpuriu al materialului celular, Felix Du Jardin, a propus în 1835 că toate celulele erau compuse dintr-un material mobil numit "sarcode" care avea atât proprietăţi structurale, cât şi contractile. În 1861, austriacul E. Brucke a legat proprietăţile mecanice şi fiziologice ale celulelor de o organizare sau arhitectură fundamentală a citoplasmei, distinctă de proprietăţile pur chimice sau fizice. Microscopistul olandez timpuriu van Leeuwenhoek a observat că globulele roşii se deformau trecând prin capilare şi apoi reveneau la forma iniţială, demonstrând elasticitatea citoplasmei. Varietatea formelor elaborate pe care celulele le asumă şi le menţin necesită, de asemenea, o anumită rigiditate citoplasmică, proprietăţi care i-au determinat pe biologii secolului al XIX-lea să concluzioneze că citoplasma nu este doar un lichid, nici o emulsie, nici o suspensie apoasă de granule purtătoare de viaţă. Mai degrabă, arhitectura şi contractilitatea citoplasmică ar putea fi explicate prin propunerea unei substructuri asemănătoare unei reţele "reticulare" sau "fibroase", ale cărei interstiţii erau umplute cu fluid. Pentru unii biologi timpurii, structura citoplasmei consta, prin urmare, dintr-o reţea reticulară continuă de fibrili delicate care se extindeau prin celulă (teoria reticulară). Alţii au susţinut că fibrilii care formau substratul citoplasmic erau neramificate şi discontinue (teoria fibrilară). Ambele aceste teorii au fost iniţial susţinute, dar mai târziu au fost dezumflate de tehnicile de preparare microscopică de fixare şi colorare care au apărut între 1870 şi 1890. Cadrul fibrilar şi reticular a apărut peste tot în multe tipuri de celule fixate, în special în celulele musculare, nervoase, cartilaginoase şi epiteliale.

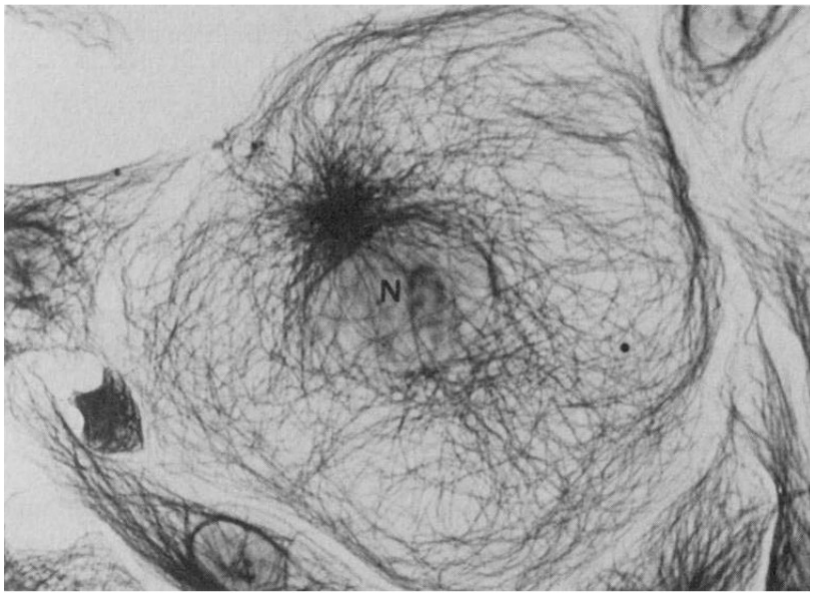


*Fig. 5.1: Reţea citoscheletală într-o celulă de rinichi de cangur şobolan (ptK2) ilustrată prin anticorp antitubulină şi microscopie optică. Microtubulii emană dintr-o regiune MTOC densă din apropierea nucleului (N). Cu permisiunea lui Marc DeBrabander (1982).*

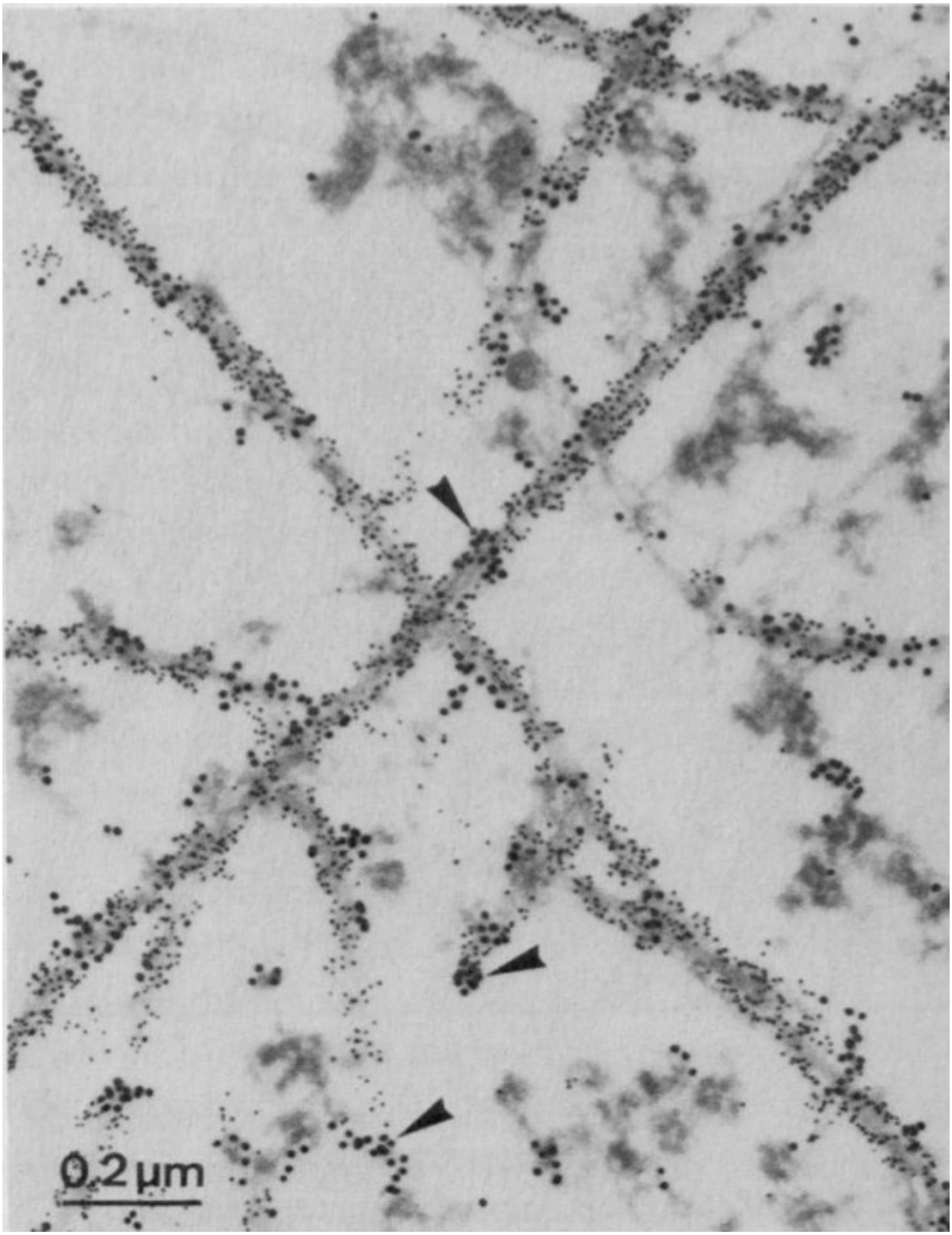


*Fig. 5.2: Microtubuli din celule PtK2 dublu marcați cu anticorp și imunogold sub mărire mare. Cercurile mari (particule de aur de 10 nanometri, săgeți) etichetează subunitățile de tubulină glutamatată, iar cercurile mici (particule de aur de 5 nanometri) etichetează subunitățile de tubulină tirozinată. Cu permisiunea lui Geuens, Gundersen, Nuydens, Cormellisen, Bulinski și DeBrabander (1986), prin amabilitatea lui Marc DeBrabander și a Janssen Pharmaceutica Research Laboratories.*

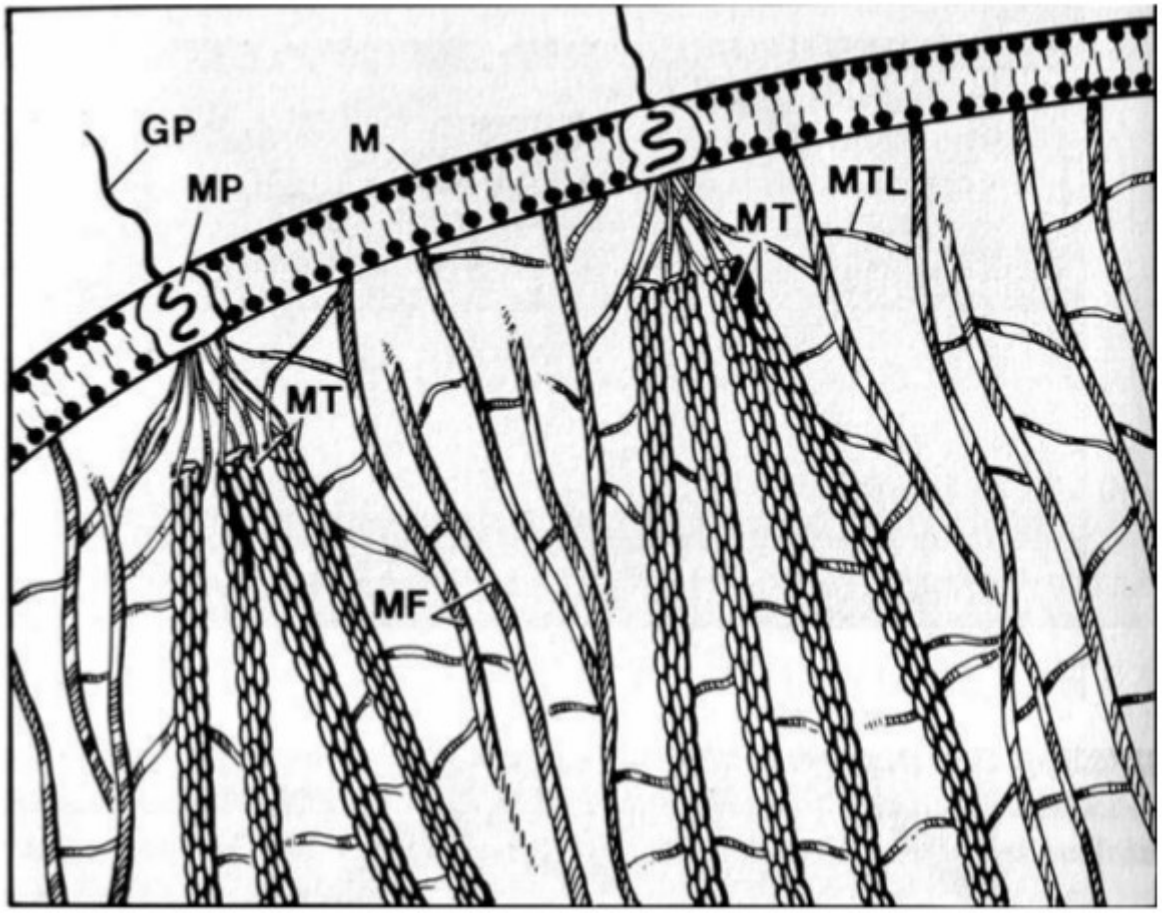


*Fig. 5.3; Schema citoscheletului/membranei celulare. M: membrana celulară, MP: proteină membranară, GP: glicoproteină care se extinde în spațiul extracelular, MT: microtubuli, MF: microfilamente (filamente de actină sau filamente intermediare), MTL: rețea microtrabeculară. Proteinele citoscheletale care conectează MT și proteinele membranare includ spectrina, fodrina, anchirina și altele. De Fred Anderson.*

Fischer şi Hardy (1899) au arătat că noile fixatoare şi coloranţi au indus coagularea artificială a gelatinei, albuminei din ouă şi a altor proteine. Coagularea a dat naştere unor formaţiuni reticulare şi fibrilare frumoase şi chiar a produs fusuri mitotice izbitor de reale, dar false! Aceste studii au descurajat sprijinul pentru teoriile fibrilare şi reticulare, în măsura în care mulţi citologi au negat că reţelele observate în materialele fixate ar avea vreo validitate în celula vie. Butschli a adăugat teoria sa despre spuma alveolară a structurii citoplasmatice, afirmând că aspectul reticular văzut în materialele fixate şi uneori în celulele vii rezultă dintr-o structură de tip fagure de vacuole ale unei substanţe înghesuite împreună într-o fază continuă a alteia. Această teorie a murit, deoarece nu a reuşit să ţină cont de observaţiile de fixare şi pentru că citoplasma vacuolată era neobişnuită. Între timp, observaţiile privind formarea fibrilară adevărată în celulele vii se acumulau. Utilizarea microscopiei cu lumină polarizată a dezvăluit bastonaşe submicroscopice "birefringente" în citoplasma muşchilor, nervilor, spermatozoizilor şi fusurilor celulelor în diviziune. Biologii au început să considere citoplasma ca un "gel", în care filamentele în formă de tijă formau legături încrucişate. Gelul descrie în mod adecvat proprietăţile mecanice ale citoplasmei: o împletire elastică a unităţilor cristaline liniare, conferind elasticitate şi rigiditate unui fluid, permiţându-i în acelaşi timp să curgă.

Bastonaşele protoplasmatice dezvăluite prin birefringenţă în microscopia polarizată au fost considerate proteine sau agregate liniare de proteine, care erau menţinute împreună prin legături de hidrogen. Seifriz a concluzionat că "artefactele" fibrilare produse în celule sau soluţii proteice la fixare au fost semnificative. El a sugerat că firele microscopice relativ grosiere din materialele

fixate pot fi agregate produse artificial ale unor fire submicroscopice importante, probabil proteine liniare. Pentru a explica proprietăţile elastice şi de tracţiune ale citoplasmei, Seifriz a propus "teoria grămezii de perii" a fibrelor împletite. El şi alţii au sugerat mai târziu că fibrele citoplasmatice ar putea exista sub forma unei grămezi de perii sau ar putea forma asociaţii laterale prin legături de hidrogen în agregate paracristaline şi că trecerea între cele două stări a explicat comportamentul citoplasmatic observat în celulele vii. Acum ştim că subunităţile proteinei actină pot polimeriza într-o varietate de forme, inclusiv geluri împletite sau fascicule filamentoase. Stările "gel" citoplasmatice apar datorită legăturilor încrucişate ale filamentelor de actină şi a altor proteine citoscheletice şi pot fi transformate în stări "sol" mai apoase prin ioni de calciu şi alţi factori.

Dezvoltarea microscopului electronic până în anii 1960 nu a iluminat iniţial substructura citoplasmei. Porţiunile celulelor care erau optice goale prin microscopie optică au persistat ca fiind goale în microfotografiile electronice. Celula a fost percepută de mulţi ca fiind o "pungă de enzime apoase". Cu toate acestea, în unele cazuri, structurile fibrilare văzute cu microscopia optică au apărut ca filamente tubulare fine cu microscopul electronic. Acestea constituiau structura internă a cililor, flagelilor, centriolilor şi corpurilor bazale şi erau proeminente în aparatul mitotic al celulelor în diviziune. Filamentele tubulare au fost, de asemenea, întâlnite frecvent în protozoare, globule roşii nucleate şi dendritele neuronilor. În mod ironic, fixatorul folosit atunci în microscopia electronică, tetroxidul de osmiu, dizolva elemente filamentoase, astfel încât prezenţa lor era observată doar sporadic. La fel ca coagularea indusă de fixatorul din secolul al XIX-lea, care a indus structuri fibrilare superflue, utilizarea tetroxidului de osmiu a întârziat recunoaşterea citoscheletului. Mai târziu, odată cu apariţia fixării cu glutaraldehidă, s-a constatat că structuri tubulare delicate erau prezente în aproape toate tipurile de celule şi au ajuns să fie numite microtubuli. Fasciculele de microtubuli observate cu microscopul electronic corespundeau fibrelor birefringenţe observate în celulele vii. Ubicuitatea lor a sugerat că acestea erau substructura fibrilară a citoplasmei, prezisă anterior pe baze teoretice. După o oarecare scepticism, microtubulii au fost acceptaţi în general ca "organite de uz casnic" în aproape toate celulele studiate. Caracterizarea ulterioară a actinei, a filamentelor intermediare, a reţelei microtrabeculare sau a "substanţei de bază" şi a structurii centriolilor a condus la recunoaşterea faptului că celulele erau compuse din reţele dinamice de filamente de conectare şi a scos citoscheletul din umbră.

## 5.2. Microtubuli

Soifer (1986):

> Atunci când microtubulii sunt necesari unei celule pentru o anumită funcţie, microtubulii se adună în partea corespunzătoare a celulei, cu orientarea necesară. Atunci când microtubulii nu mai sunt necesari, aceştia se depolimerizează.

Funcţiile esenţiale din celulele vii, de la *amoeba* unicelulară şi Paramecium la neuronii din viermii de pământ şi savanţii Nobel, sunt îndeplinite de structuri citoscheletice similare. Cele mai vizibile şi studiate pe scară largă elemente citoscheletice sunt microtubulii (MT), cilindri subţiri intim implicaţi în funcţii celulare importante. Aşa cum ADN-ul este baza de date genetice comună care conţine informaţii ereditare, microtubulii sunt execuţii în timp real ale activităţilor dinamice din cadrul celulelor vii.

### 5.2.1. Structura și funcția microtubulilor

Microtuburile (MT) sunt cilindri goi cu diametrul de aproximativ 25 nanometri, ai căror pereţi sunt reţele polimerizate de subunităţi proteice. Lungimea lor poate varia de la zeci de nanometri în timpul asamblării timpurii, până la posibil metri în axonii nervoşi din animalele mari. Subunităţile proteice se asamblează în şiruri longitudinale numite protofilamente; treisprezece protofilamente paralele se aliniază lateral pentru a forma „tubulii” goi. Subunităţile sunt proteine „în formă de halteră” («dimeri») care, la rândul lor, constau din două proteine globulare („monomeri”) cunoscute sub numele de tubulină alfa şi beta (figura 5.4). Monomerii de *alfa* şi *beta* tubulină sunt

molecule similare cu orientare identică în cadrul protofilamentelor şi al pereţilor tubulilor. Fiecare monomer constă din aproximativ 500 de aminoacizi, cântăreşte aproximativ 55 de kilodaltone (capitolul 6) şi are o polaritate locală sau o orientare a sarcinilor. MT care cresc din centrele celulare au un capăt plus (beta tubulină) care se extinde spre exterior din centrul celular („centrozom") în periferia celulei. Capătul minus (*alfa* tubulină) rămâne ancorat la un centru de organizare a microtubulilor (MTOC) din cadrul centrozomului. Fiecare dimer, precum şi fiecare MT, pare să aibă o polaritate electrică sau un dipol, cu capătul negativ orientat spre monomerul *alfa* şi centrul celular, iar capătul pozitiv spre monomerul *beta* şi periferia celulară.

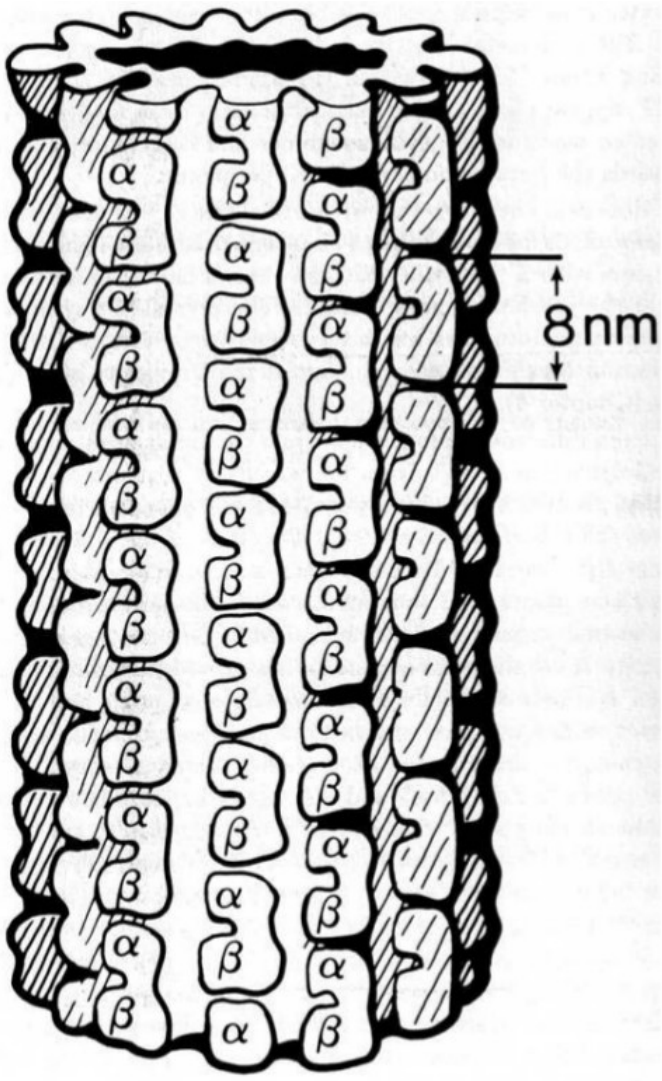


*Fig. 5.4: Microtuburile sunt cilindri ai căror pereţi sunt 13 protofilamente, fiecare fiind un şir de dimeri de tubulină de 8 nm. Monomerii de alfa şi beta tubulină formează dimerii. Fiecare dimer are 6 vecini. De Fred Anderson.*

Dimerii sunt ţinuţi împreună de forţe hidrofobe Van der Waals relativ slabe, cum ar fi cuplarea dipolilor (Capitolul 6). Vecinii dimerilor formează reţele hexagonale cu o înclinare „spre stânga" şi pot fi observate mai multe modele elicoidale în relaţiile dintre dimeri. Simetria asemănătoare cristalelor a tubulinei din microtubuli a fost evaluată de Djuro Koruga (1986) de la Unitatea de Cercetare a Maşinilor Moleculare de la Universitatea din Belgrad din Iugoslavia (Capitolul 8).

MT din diferite forme de viaţă au similarităţi marcante, dar diferenţe subtile. Compararea MT din celulele nervoase ale râmelor şi mamiferelor arată că MT mai primitive ale viermilor sunt mai variabile în structura geometrică, cu MT variind de la 9 la 11 protofilamente, în timp ce MT mamifere au, în general, 13. Tubulinele din diferite specii, inclusiv mamifere şi plante, se leagă de

anticorpi comuni şi tubulinele din diferite specii se pot coasambla în MT hibride. În ciuda acestor trăsături comune, diversitatea expresiei genice a tubulinei s-a dovedit a fi mult mai mare decât se imagina acum ani de zile. Analiza tubulinei prin secvenţierea aminoacizilor şi tehnici electroforetice avansate a arătat că există simultan multiple *alfa* şi *beta* tubuline diferite, cu cea mai mare diversitate prezentată de *beta* tubulină. De exemplu, Lee (1986) şi colegii săi de la Universitatea din St. Louis au arătat că există până la 11 forme diferite de tubulină în microtubulii tiroidieni de şobolan şi 17 forme diferite în microtubulii cerebrali de şobolan. Astfel, *alfa* şi *beta* tubulina sunt familii de „izozime", fiecare putând avea funcţii specifice sau legarea proteinelor asociate microtubulilor (MAPs). O altă variabilă a tubulinei, detirozinarea, apare în citoplasmă ulterior transcrierii ADN-ului. Detirozinarea este îndepărtarea aminoacidului terminal, tirozină, din lanţul polipeptidic care cuprinde *beta* tubulina. Îndepărtarea tirozinei expune un aminoacid acid, glutamat. Factorii locali din citoplasmă, independenţi de programarea genetică, determină dacă subunităţile individuale de tubulină sunt „tirozinate" sau „glutamate". Marc DeBrabander (1986) şi colaboratorii săi de la Janssen Pharmaceutica din Belgia au reuşit să identifice subunităţi specifice de tubulină în microtubulii asamblaţi care sunt fie tirozinate, fie glutamate. Studiile lor elegante arată modele eterogene de tubulină tirozilată şi glutamată, care ar putea indica o reprezentare a informaţiilor cuplată cu funcţii MT specifice prin acţiunea MAPs (Figura 5.5).

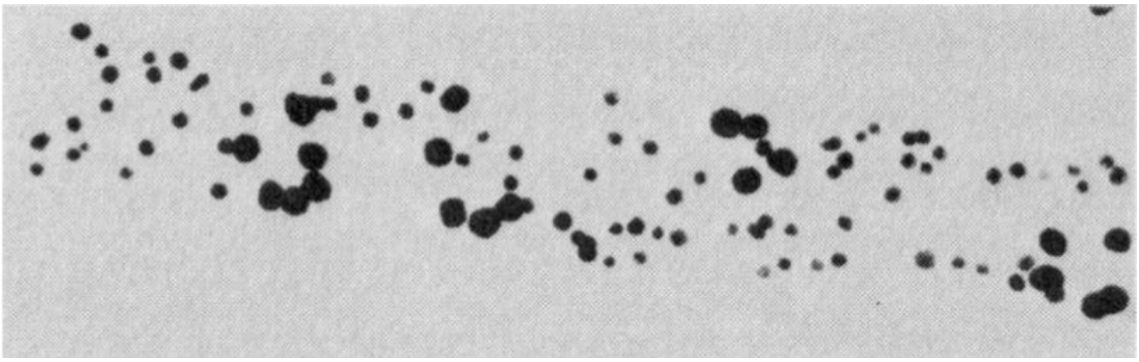

*Fig. 5.5; Microtubule dublu marcate cu anticorpul tubulinei imunogold. Cercurile mari, particule de aur de 10 nanometri, etichetează tubulina glutamată; cercurile mici, particule de aur de 5 nanometri, etichetează tubulina tirozinată. Cu permisiunea lui Geuens et al (1986), prin amabilitatea lui Marc DeBrabander şi Janssen Pharmaceutica Research Laboratories*.

Încă de la primele studii de microscopie electronică, microtubulii au fost invariabil descrişi ca fiind înconjuraţi de o „zonă clară", care dă impresia unui „halou" în jurul lor atunci când sunt văzuţi în secţiune transversală. O distanţă de 5-10 nanometri de la suprafaţa MT este lipsită de substanţă fundamentală citoplasmică sau de orice alt material observat în mod normal în celulă. Aceste spaţii clare au fost considerate iniţial artefacte microscopice electronice sau stratificări de proteine filamentare mai puţin dense pe suprafaţa microtubulilor. Cu toate acestea, tehnicile mai noi de fixare şi colorare şi gravura prin îngheţare au confirmat că spaţiul care înconjoară imediat microtubulii este rareori invadat de alte organite sau de substanţa fundamentală citoplasmică. Stebbings şi Hunt (1982) au studiat „zona clară" şi subliniază că suprafaţa microtubulilor este puternic „anionică", deoarece tubulina este o proteină acidă datorită conţinutului său ridicat de aminoacizi acizi, cum ar fi glutamatul şi aspartatul. Aceşti aminoacizi eliberează ioni de hidrogen încărcaţi pozitiv în soluţie, lăsând MT cu exces de electroni. Stebbings şi Hunt propun că câmpurile anionice, sau electronegative, de la suprafeţele MT pot explica zonele clare, precum şi colorarea MT prin coloranţi încărcaţi pozitiv, legarea la MT a proteinelor încărcate pozitiv, cationi precum calciu, metale şi alte compuşi. Câmpurile electronegative care înconjoară MT pot acţiona ca straturi de încărcare ionică excitabile („straturi Debye") care se crede că apar şi imediat adiacent membranelor celulare (Green şi Triffet, 1985). Straturile de încărcare „zona clară" excitabile, adiacente MT, ar putea facilita mecanismele comunicative colective în interiorul citoscheletului (Figurile 6 şi 8).

Întrebarea despre miezul gol din interiorul MT este şi mai misterioasă; şi acesta pare lipsit de substanţă fundamentală. Nu se ştie dacă interiorul MT este, de asemenea, zonă electronegativă sau, poate, pozitivă, care ar crea gradiente de tensiune pe pereţii MT. Del Giudice şi colegii (1986) de la Universitatea din Milano au sugerat chiar focalizarea electromagnetică şi „superconductivitatea" în interiorul nucleelor microtubulilor (Capitolele 6 şi 8). Izolaţi de mediul „apos" şi ţinuţi împreună de forţe hidrofobe care exclud apa, MT şi restul citoscheletului alcătuiesc o reţea de „stare solidă" în interiorul celulelor vii.

Ce fac microtubulii? În primul rând, ei alcătuiesc citoscheletul, fiind cele mai rigide structuri din majoritatea celulelor. Pentru a stabili modelul citoscheletului şi forma şi funcţia celulelor vii, MT se asamblează din subunităţi la momentul, locul şi direcţia potrivite. Acestea sunt adesea ancorate şi ghidate de centrele de organizare MT (MTOC) care conţin centrioli. Odată ajunse la locul lor, ele participă la mişcarea citoplasmei, organitelor şi materialelor, la creştere, reproducere, plasticitate sinaptică şi la aproape toate exemplele de activitate citoplasmică dinamică. Mecanismele pentru organizarea MT sunt necunoscute, dar au fost propuse mai multe teorii privind procesarea informaţiilor pe bază de MT şi vor fi descrise în Capitolul 8. Multe funcţii ale MT implică controlul şi semnalizarea activităţilor proteinelor ataşate, inclusiv a celor care interconectează MT în ansambluri precum centrioli, cili şi flageli. Alunecarea activă prin punţi motile ataşate de-a lungul MT este implicată în determinarea formei celulelor şi în extinderea proiecţiilor citoplasmatice, cum ar fi conurile de creştere a neuronilor, spinii dendritici şi lamellipodia amoeba. Aceste extensii conţin fascicule de filamente de actină fără MT, cu toate acestea, MT stabilesc în general arhitectura care orientează aceste extensii, le asigură materiile prime, le ancorează şi le integrează funcţiile cu celula. În transportul citoplasmic, componentele care se deplasează de-a lungul şirurilor paralele de microtubuli citoplasmatici livrează materialele celulare oriunde este nevoie de ele. În procesele citoplasmatice asimetrice de lungă durată, cum ar fi axonii nervoşi, mecanisme specializate de transport axoplasmic au evoluat pentru a transporta constituenţii celulari la viteze de până la cinci mii de nanometri pe secundă! MT orchestrează forţa motilă furnizată de braţele mecanice "dineină" pentru a mişca organitele care includ cromozomii, nucleii, mitocondriile, veziculele sinaptice ale neurotransmiţătorilor, lipozomii, fagosomii, granulele, ribozomii şi alte proteine. Asamblarea MT determină forma şi funcţia sistemelor biologice.

MT participă, de asemenea, la percepţia senzorială a mediului extern al celulei. Mulţi receptori senzoriali sunt cili modificaţi, ansambluri de microtubuli cu structură similară centriolilor. Mecanoreceptorii insectelor şi ciliile senzoriale din urechile noastre par să utilizeze MT pentru a transduce forţa mecanică la baza fiecărui ciliu şi în sistemul nervos. Atema (1973) a propus ca propagarea modificărilor conformaţionale de-a lungul cililor senzoriali să transmită informaţii întregii celule. Moran şi Varela (1971) au sugerat că ciliile senzoriale MT acţionează ca nişte motoare acţionate înapoi. Atunci când o forţă externă mişcă microtubulii ciliului mecanoreceptor, ei sugerează că MT eliberează ioni precum calciul, care pot regla activităţile celulare. Transducţia senzorială, ghidarea şi alinierea sunt activităţi „inteligente" ale MT care sunt vitale pentru creşterea biologică, dezvoltarea embriologică, secreţie, formarea sinapselor şi multe alte funcţii biologice importante. Controlul temporal şi spaţial al desfăşurării MT se realizează prin două mecanisme de formare a modelelor: asamblarea dirijată din centrele de organizare MT (MTOC) şi autoasamblarea reţelelor multitubulare prin intermediul legăturilor intertubulare (figura 5.6). MT sunt scheletul, benzile transportoare şi calculatoarele celulelor vii.

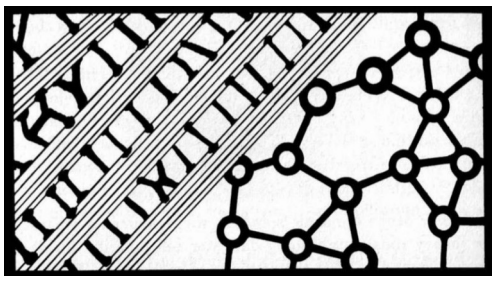

*Fig. 5.6; Reţele de microtubuli interconectate prin punţi MAP. Cercurile goale sunt reţele de MT în secţiune transversală. De Paul Jablonka.*

## 5.2.2. Asamblarea microtubulilor și generarea formei

Ca suprastructuri celulare modificabile, MT se pot asambla în tije tubulare rigide când şi unde sunt necesare şi apoi se pot dezasambla în subunităţi care pot fi transportate de alţi MT. Ca mulţi viruşi, MT se autoasamblează din subunităţile lor în polimeri ordonaţi. Creşterea mare a ordinii sau entropia negativă asociată asamblării MT pare să contravină celei de-a doua legi a termodinamicii care, în general, afirmă că ordinea tinde spre dezordine. Creşterea ordinii observată în timpul asamblării MT poate fi legată de dispersarea (dezordonarea) apei structurate strâns legată de subunităţi pe măsură ce acestea polimerizează, în concordanţă cu conceptul conform căruia subunităţile MT se asociază prin interacţiuni hidrofobe (capitolul 6).

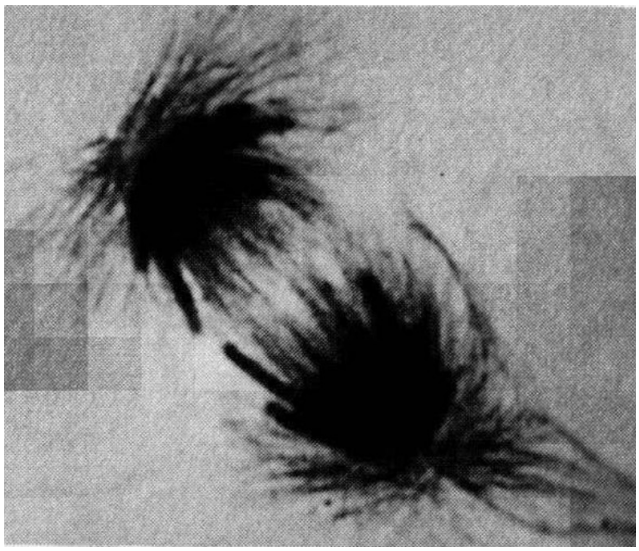

*Fig. 5.7: Fusuri mitotice cu microtubuli «filamente subţiri care separă cromozomii (tije grele)» stabilind polaritatea celulelor fiice în timpul diviziunii celulare. Centriolii şi MTOC se află la nidul fiecărui filament. Cu permisiunea lui Marc DeBrabander (1982).*

MT variază considerabil în stabilitate şi funcţie. MT structural similare pot fi extrem de stabile sau trecătoare. Această variabilitate poate rezulta din diferenţele în chimia tubulinei, din efectele proteinelor secundare ataşate în puncte specifice pe reţelele de suprafaţă MT (proteine asociate microtubulilor: MAP), influenţe citoplasmatice locale, interacţiuni cu membranele şi mulţi alţi factori. MT extrem de stabile se găsesc în cili şi flageli, în care sunt asamblaţi în modele complexe şi îşi îndeplinesc funcţiile fără dezmembrare. Cealaltă extremă sunt MT în interiorul fusurilor mitotice care separă cromozomii şi stabilesc forma celulelor fiice în diviziunea celulară ("mitoza"—Figura 5.7). Aceste MT "labile" nu numai că se asamblează înainte de mitoză şi se demontează după aceea, dar aparent suferă dezmembrare/reasamblare localizată în timpul mitozei ("instabilitate dinamică"). În unele celule animale şi în timpul mitozei celulare vegetale, asamblarea subunităţilor MT în MT pare să aibă loc în citoplasmă fără nicio legătură cu o organelă anume. În alte celule, structuri care includ centrioli, corpuri bazale, centrozomi şi kinetocori facilitează asamblarea microtubulilor într-un loc şi o orientare specifică.

Aceste structuri se numesc centre de organizare a microtubulilor (MTOC) şi constau dintr-o pereche de centrioli şi un material granular dens. În general, capetele încărcate negativ ale MT se ataşează la MTOC, iar capetele încărcate pozitiv cresc distal faţă de MTOC, stabilind polaritatea, forma şi orientarea celulei. Procesul de asamblare MT poate fi urmărit de parametri care reflectă grosolan nivelul polimerului, cum ar fi turbiditatea sau vâscozitatea. În general, există mai întâi o fază de întârziere când nu se formează microtubuli, apoi o fază de creştere exponenţială şi, în final, un platou stabil. La concentraţii scăzute, nu se formează microtubuli. Peste o anumită concentraţie critică (Cc) de tubulină, microtubulii cresc în raport cu concentraţia totală de tubulină. Cu toate acestea, asamblarea MT este mai complexă decât a fi pur şi simplu în echilibru cu un grup de subunităţi neasamblate.

Asamblarea spontană a dimerilor de tubulină depinde de condiţiile fiziologice care modifică concentraţia critică (Cc) a subunităţilor necesare. Asamblarea spontană a MT depinde, aşadar, de mulţi cofactori: concentraţia de ioni de calciu, temperatură, prezenţa inhibitorilor sau stabilizatorilor de microtubuli (Figura 5.8), proteine asociate microtubulilor (Figura 5.12), prezenţa centrelor de organizare a microtubulilor (MTOC - Figura 5.9) şi disponibilitatea GTP. La fel ca ATP (adenozin trifosfat - necesar pentru asamblarea actinei), GTP (guanozin trifosfat) este o sursă de energie biochimică. După cum va fi descris în Capitolul 6, ATP şi GTP pot dona fiecare energie de legătură fosfat prin "hidroliza" la "difosfaţii" lor ADP şi, respectiv, GDP. În cazul asamblării atât a MT, cât şi a filamentelor de actină, prezenţa GTP sau ATP fără a fi hidrolizat este o cerinţă importantă pentru asamblare. Analogii nehidrolizabili ai GTP sunt la fel de eficienţi în promovarea asamblării MT; hidroliza şi aportul de energie au loc după încorporarea unui dimer într-un tub. MT formate cu analogi nehidrolizabili sunt mai stabile decât cele cu GTP, deci energia de hidroliză poate fi legată de dezmembrare. În filamentele de actină, hidroliza are loc, de asemenea, după formarea polimerului. Prin urmare, există un paradox, în sensul că legarea GTP este necesară pentru asamblarea microtubulilor, dar hidroliza GTP are loc mai târziu şi nu este necesară pentru asamblare. O situaţie identică apare cu actina şi ATP. Epurarea ATP (pentru actină) şi GTP (pentru MT) inhibă puternic dezmembrarea, dar nu împiedică asamblarea în sine. Cu toate acestea, în celulele epuizate de energie, asamblarea aleatorie prevalează în loc de asamblarea organizată. Energia din hidroliza legăturii fosfat, moneda energetică principală în toate sistemele biologice, nu este luată în considerare în cadrul citoscheletului, organizatorul dinamic al funcţiei celulare. Poate că energia este utilizată pentru a genera vibraţii de reţea comunicative, excitaţii coerente sau "solitoni" în MT şi în citoschelet în general (Capitolele 6 şi 8).

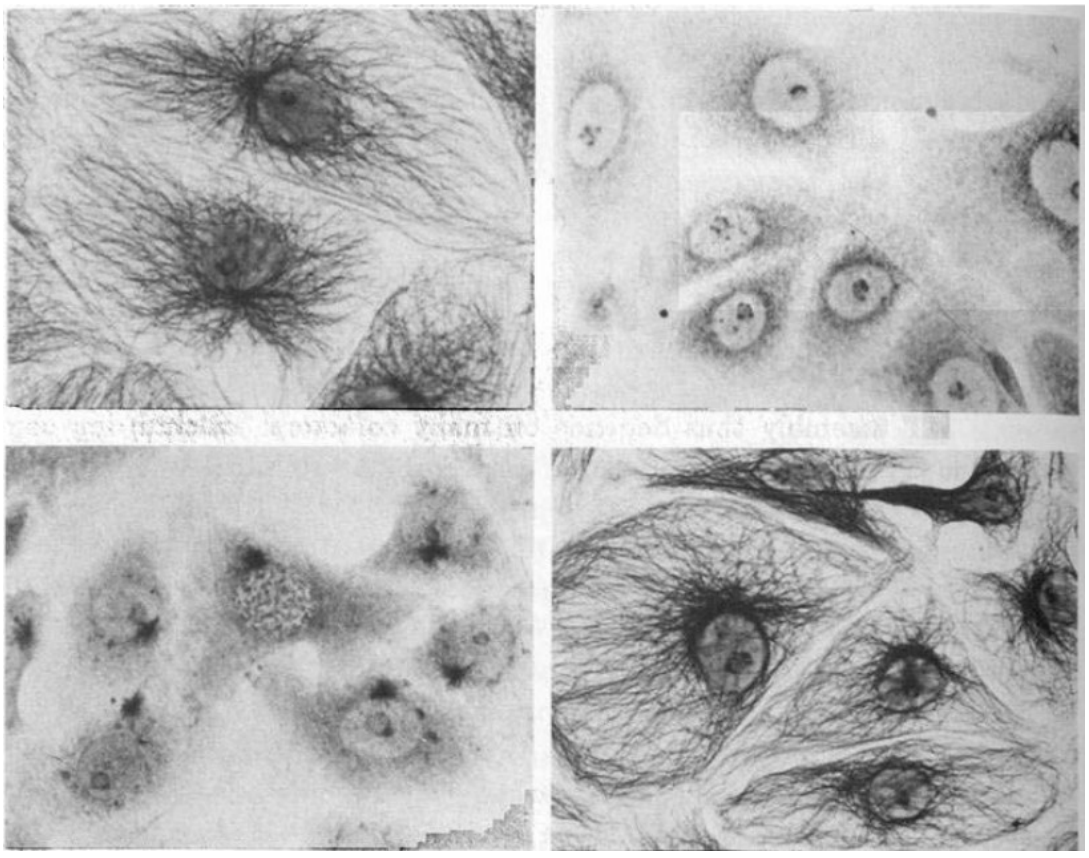

*Fig. 5.8: Efectele medicamentului de dezasamblare MT nocodazol în celulele PtK2. MT vizualizate cu metoda peroxidază-antiperoxidază (PAP). Stânga sus: MT organizate radiază din regiunea densă MTOC de lângă nucleu. În dreapta sus: celulele au fost tratate cu nocodazol (2 x $10^{-5}$ M, 4 ore) şi MT depolimerizate. Stânga jos: celule spălate după nocodazol, 5 minute mai târziu MT crescând din MTOC-uri. În dreapta jos: celulele la 20 de minute după spălare au sistemul MT reorganizat. Cu permisiunea DeBrabander, Geuens, Nuydens, Willebrords şi DeMey (1981).*

Asamblarea MT necesită, de asemenea, prezența ionilor de magneziu și o concentrație scăzută de ioni de calciu. Calciul este un important sistem mesager în cadrul multor forme de citoplasmă. Valurile de calciu pot fi cauzate de activitățile membranare și citoscheletice și pot induce modificări conformaționale în proteine și dizolva gelul citoplasmatic, transformându-l într-o stare mai apoasă: „sol”. Dimerii de tubulină leagă slab 16 ioni de calciu per dimer (Hayashi și Matsumara 1975); un exces de calciu determină însă dezasamblarea MT. În prezența unor ioni de zinc abundenți, tubulina se polimerizează în foițe expansive plate mai degrabă decât în cilindri.

Subunitățile dimerice alfa/beta tubulină sunt toate dispuse în aceeași direcție. Subunitatea beta proemină la capătul „plus” și conține locul de legare a GTP-ului schimbabil. „Cc” pentru asamblare este mai mic la capătul plus decât la capătul minus. La starea de echilibru, în prezența GTP hidrolizabil, se observă o încorporare netă de subunități dimer la capătul plus și o pierdere netă de subunități dimer la capătul minus. Subunitățile se deplasează astfel de la capătul plus la capătul minus în MT - un fenomen numit „treadmilling”. În MT ancorate la un capăt la centrele de organizare, treadmilling este o mișcare netă a subunităților în interiorul rețelei MT și poate corespunde componentei lente de 1 milimetru pe zi a transportului axoplasmatic. Astfel, MT pare să crească continuu, poate să se răsucească, la o rată de aproximativ 10 nanometri pe secundă. MT labile își pot polimeriza drumul prin citoplasmă, adăugând GTP-tubulină la capătul beta plus și eliminând GDP tubulină la capătul alfa minus. Aceste tipuri de MT se pot comporta astfel ca tractoare mobile, omizi citoscheletice (figura 5.10).

Dezasamblarea sau separarea subunităților dimerice de tubulină de la MT este indusă atunci când dimeri terminali leagă GDP. Când GTP este hidrolizat, un grup fosfat este pierdut și guanozin trifosfatul (GTP) devine guanozin difosfat (GDP). Dimerii legați de GTP la capetele deschise ale MT ( "capace" GTP) sunt stabili: rămân asamblați. Cu toate acestea, atunci când capetele deschise ale MT conțin subunități care leagă GDP, acestea tind să se elibereze și să scurteze cilindrul MT. MT ale căror capete distale au tubulină GDP expusă și nu sunt ancorate de structuri precum MTOC, se micșorează și se depolimerizează. În general, polimerii MT liberi (cei care nu sunt ancorați de MTOC) sunt "chimerici" cu porțiuni de GTP nehidrolizat la capete (capace GTP) și GDP la interior. Polimerii în creștere au capace "protectoare" de subunități GTP la capătul lor; polimerii în contracție își pierd capacele GTP și expun subunități GDP la capăt, provocând dezasamblare.

Microtubulii par astfel să existe în două populații: majoritatea crescând într-un ritm apreciabil și minoritatea micșorându-se foarte rapid și furnizând noi subunități pentru creștere. Acest concept a fost numit "instabilitate dinamică", cu micșorarea rapidă a MT denumită "catastrofe microtubulare" (Kirschner și Mitchison, 1986). Cu cât rata de creștere este mai rapidă, cu atât capacul GTP este mai mare și cu atât probabilitatea ca capacul să dispară și microtubulul să se depolimerizeze este mai mică. Când capacul dispare și subunitățile GDP sunt expuse, polimerul intră într-o fază rapidă de depolimerizare ("catastrofală"). MT conțin treisprezece protofilamente paralele și nu este clar câte subunități expuse care conțin GTP sau GDP la terminalele MT sunt necesare pentru stabilitate sau instabilitate. Un factor esențial este rata hidrolizei GTP, care are ca rezultat tubulina GDP și induce dezasamblarea. Utilizarea energiei de hidroliză a GTP de către MT și citoschelet este o porțiune semnificativă a consumului de energie biologică, dar rămâne neapreciată. Teoriile de reglementare a stării conformaționale a proteinelor, cum ar fi solitonii și excitațiile coerente, care ar putea explica consumul util al energiei de hidroliză, vor fi descrise în capitolul 6. Solitonii, vibrațiile coerente ale rețelei și rezonanța cooperantă prezintă posibilități de efecte colective și, eventual, inteligente în celule.

Cercetătorii japonezi Horio și Hotani (1986) au observat direct MT în creștere și în contracție folosind video microscopic cu câmp întunecat. Ei au observat că ambele capete ale unui microtubul pot exista fie în faza de creștere, fie în cea de scurtare și alternează destul de frecvent între cele două faze într-un mod aparent aleatoriu. În plus, capetele în creștere și în contracție pot coexista pe un singur microtubul: călcare. Un capăt poate continua să crească simultan cu scurtarea la celălalt capăt. Cele două capete ale oricărui microtubul dat au caracteristici remarcabil de diferite. Un capăt "activ" (presupus a fi beta, plus capătul) crește mai repede, alternează în fază între creștere și contracție mai frecvent și fluctuează în lungime într-o măsură mai mare decât capătul inactiv.

Proteinele asociate microtubulilor ("MAPs") suprimă conversia fazelor şi stabilizează microtubulii în faza de creştere.

Există multe mecanisme aparente pentru stabilizarea microtubulilor polimerizaţi: acestea pot fi acoperite sau legate de diverse structuri. Legarea la capătul proximal la MTOC-uri stabilizează MT şi împiedică depolimerizarea lor la capătul opus. MT trebuie să fie stabilizate la un singur capăt pentru a predomina în celule, deoarece, chiar dacă se depolimerizează, un altul se va reforma în acelaşi loc şi orientare (DeBrabander, 1985). Astfel, MTOC-urile oferă celulelor un mijloc de reţinere selectivă a unei subclasificări de MT orientate specific.

MTOC orientate într-o direcţie specifică pot determina polaritatea celulară, inclusiv extinderea celulelor în creşterea embriologică, formarea apendicelor de sondare numite filopodii în celulele locomoatoare şi creşterea proceselor nervoase. Semnalele de la periferia celulei provoacă, aparent, o asimetrie a citoscheletului microtubular şi a polarităţii celulare generale. Cum poate un indiciu periferic să ducă la reorganizarea în profunzimea celulei? O posibilă explicaţie este că un semnal este transmis prin citoschelet la MTOC, conducând la o schimbare a orientării sale şi la nucleerea direcţionată a microtubulilor. O alta este că un semnal la periferie afectează direct distribuţia MT. Întrucât întreaga reţea citoscheletală este dinamică, ar putea fi necesar doar să se stabilizeze tranzitoriu un anumit subset de microtubuli pentru ca reţeaua citoscheletală celulară să se transforme rapid. Kirschner şi Mitchison (1986) au propus că reţeaua dinamică de microtubuli sondează multe regiuni aleatoriu. Stabilizând anumite configuraţii MT pe măsură ce apar, ei cred că celula poate ajunge la o structură care nu este definită cu precizie de informaţiile genetice, ci una care se adaptează pentru a îndeplini un anumit rol funcţional.

Rearanjarea structurală dinamică a citoscheletului MT pare să necesite inteligenţă. La fel ca creierul în ansamblu, inteligenţa citoscheletală are caracteristici de conectare, paralelism, distribuţie şi ierarhie. Comandantele citoscheletale aparente sunt MTOC, ale căror structuri critice sunt organitele care ar fi putut deturna evoluţia: centriolii.

## 5.2.3. Centrele de Organizare a Microtubulilor (MTOC) şi Centriolii

MTOC şi componentele lor principale, centriolii, sunt aparatul specific din interiorul celulelor vii care declanşează şi ghidează reorganizarea citoplasmei, aşa cum se întâmplă în timpul creşterii, generării formei şi funcţiei ("diferenţiere") şi a mişcării celulare. Enigmaticul MTOC determină unde, când şi cum apar aceste funcţii (Figura 5.11).

MTOC (sau „centrozomi”) conţin centrioli şi „substanţă pericentriolară” care facilitează asamblarea tubulinei prin scăderea cumva a Cc. Centriolii sunt structura comună în toate aceste centre de control celular. Centriolii sunt compuşi din doi cilindri similari; diametrele lor sunt de 0,2 microni sau 200 nanometri. Fiecare cilindru posedă o simetrie radială cu 9 falduri şi este construit în esenţă din 9 triplete de microtubuli fuzionaţi longitudinal. „Sateliţii”, proteine dense în electroni, par să orbiteze în jurul centriolilor. O structură filamentoasă în formă de roată de căruţă („pinwheel”) leagă toţi microtubulii din fiecare centriol la un capăt. Un centriol generează altul prin replicare perpendiculară pe suprafaţa cilindrică a centriolei. Primul pas în diviziunea celulară este maturizarea celulei „mamă”, urmată de separarea perechilor de centrioli şi migrarea pentru a stabili arhitectura celulelor „fiice”. Mecanismele de replicare, orientare şi ghidare perpendiculară a centriolelor sunt necunoscute.

Între ciclurile de diviziune celulară („interfază”), sistemul MT este relativ liniştit şi „radial”. Majoritatea MT celulare sunt ancorate la un capăt la MTOC, deşi nu par să intre în contact cu nicio structură. Mai degrabă, capetele minus ale MT sunt cumva stabilizate de „materialul pericentriolar”. Aceasta favorizează asamblarea MT şi protejează împotriva dezasamblării prin legarea şi acoperirea capătului minus al MT. Cea mai mare parte a tubulinei este polimerizată în timpul interfazei, însă MT libere care nu radiază din MTOC apar în apropierea periferiei celulei. Cu excepţia MT libere, reţeaua este destul de stabilă, cu rate scăzute de rotaţie şi instabilitate dinamică minimă.

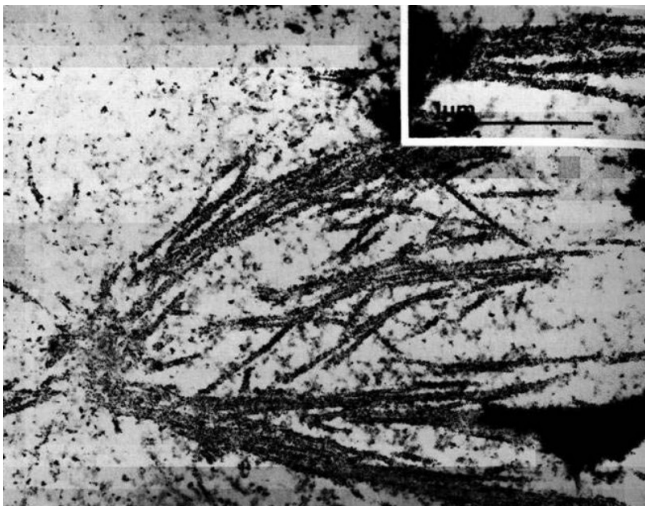

*Fig. 5.9: Microtubuli în celula mitotică PtK2 marcați cu imunoglobulină de tirozină tubulină. Regiunea polului fusiform (MTOC) din stânga este un focar pentru MT fusiforme care radiază spre cromozomi (material întunecat). Inserție în dreapta sus: MT kinetocore care atașează cromozomul. Cu permisiunea Geuens, Gundersen, Nuydens, Cornellisen, Bulinski, DeBrabander (1986).*

În timpul „profazei”, citoscheletul se pregătește pentru separarea cromozomilor duplicați, astfel încât celula să poată face o copie a sa. DeBrabander (1985):

Se pare că natura a selectat un mecanism aproape sigur bazat pe microtubuli pentru a permite celulei eucariote să gestioneze biblioteci genetice din ce în ce mai complexe.

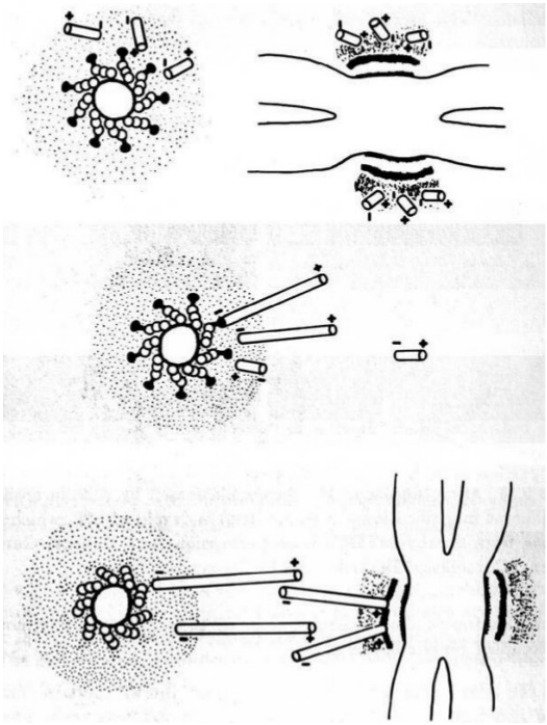

*Fig. 5.10: Modelul lui DeBrabander al acțiunii MTOC. În stânga sus: Un centriol este înconjurat de un material dens care scade Cc, concentrația critică de tubulină necesară pentru asamblarea microtubulilor. La începutul mitozei, noile MT sunt nucleate preferențial în apropierea MTOC. În dreapta sus: Plăcile kinetocore asociate cu cromozomii au, de asemenea, materialul care reduce Cc, dar ancorează capetele plus; se formează noi MT. În mijloc: Capetele minus ale MT sunt stabilizate de materialul dens pericentriolar, iar capetele plus cresc spre exterior. MT libere nu sunt stabilizate și rămân scurte datorită consumului de subunități de tubulină de către MT stabilizate de MTOC. Jos: MT stabilizate alunecă una de-a lungul celeilalte pentru a separa cromozomii. Cu permisiunea lui Marc DeBrabander (1982).*

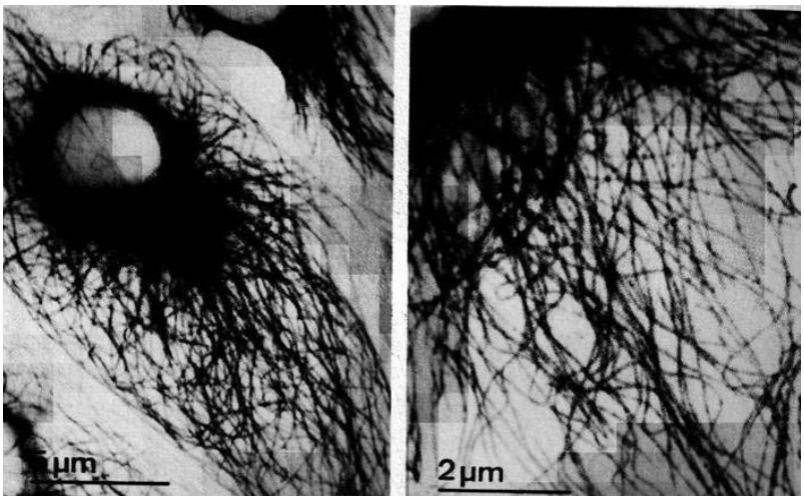


*Fig. 5.11: Microtubuli în celulele PtK2 ilustraţi de anticorpul tubulinei la două măriri diferite. Nucleul (stânga) este lipsit de MT, care emană dens din MTOC din apropiere. Cu permisiunea lui Geuens, Gundersen, Nuydens, Cornellisen, Bulinski şi DeBrabander (1986).*

Pe măsură ce cromozomii se condensează în profază, sistemul MT îşi schimbă modul de prezentare şi rata de rotaţie. MT în interfază se scurtează treptat, în timp ce noi MT încep să crească din centrozom. În acest moment, sistemul este extrem de sensibil la inhibitorii polimerizării. Medicamentele utilizate împotriva cancerului sunt adesea inhibitori mitotici care împiedică polimerizarea rapidă a MT în profază din MTOC. Kinetochorele sunt MTOC mobile care fixează cromozomii şi leagă MT la capătul lor plus (figura 5.10). MT se asamblează între centrozomi (care îşi leagă extremitatea minus) şi kinetochores (care îşi leagă extremitatea plus) şi separă materialul genetic spre polii celulelor fiice în ciclul mitotic. Ansamblul delicat al celor doi centrioli, fusurile MT conectate şi „proiecţiile astrale în formă de stea” (MT care „depăşesc” centriolii) au sugerat multor observatori un fel de câmp electromagnetic datorită asemănării cu modelul unui câmp magnetic. Inelul contractil format perpendicular pe axa mitozei de reţeaua microtrabeculară stabileşte un şanţ de clivaj care separă celulele fiice. Materialul cromozomial se decondensează în timp ce o nouă membrană nucleară este închisă pe el, iar elementele celulare capătă din nou un aspect organizat. Ulterior, celulele se aplatizează şi îşi reiau treptat forma normală de interfază.

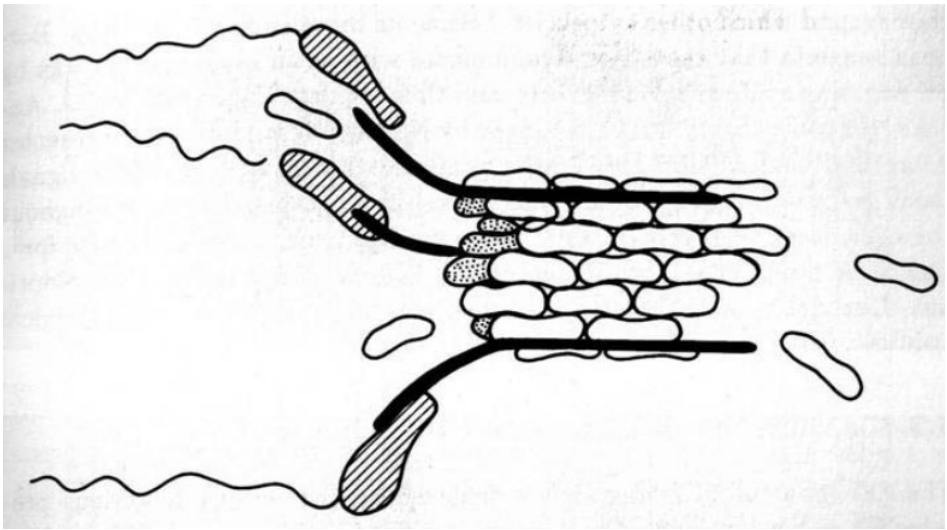

*Fig. 5.12: Reprezentare schematică a unei proteine asociate microtubulilor (MAP linii întunecate) care facilitează asamblarea unui microtubul (MT). Legătura longitudinală întârzie disocierea subunităţilor şi stabilizează structura MT. Cu permisiunea DeBrabander, DeMey, Geuens, Nuydens, Aerts, Willebrords şi Moerman (1985).*

MTOC/centriolii sunt implicați în orientare, formă, momentul diviziunii și al creșterii. Împreună cu MT și alte structuri ale citoscheletului, MTOC/centriolii determină ce fac celulele, când și cum o fac și ce fel de celule sunt! Sunt MTOC centrele de comandă ale citoscheletului? Capitolul 3 a descris poziția semnificativă a centriolilor și a MT în evoluție, iar capitolul 8 va descrie teoriile care explică capacitățile enigmatice ale centriolilor. Acestea includ considerarea (Bornens, 1979) că centriolii oscilează prin rotație cu o inerție giroscopică care detectează și stabilește orientarea celulei față de celulele vecine, țesut, mediu, câmpuri de gradient chimic, gravitație și poate alți factori. Centriolii par a fi o ancoră relativ imobilă în jurul căreia se deplasează și sunt organizate alte elemente citoscheletice. Bornens sugerează că centriolii comunică cu rețelele de filamente de actină prin propagarea efectelor conformaționale, reglând astfel activitățile celulare. Guenter Albrecht-Buehler (1977, 1985), de la Universitatea Northwestern, a prezentat o altă teorie a centriolilor, conform căreia centriolii detectează semnale (cum ar fi infraroșu, ultrasunete, microunde) care se propagă liniar prin citoplasmă. Albrecht-Buehler a analizat principiile de proiectare a unui detector de semnal direcțional la scară nanometrică și consideră că centriolii sunt potriviți. Centriolii, sau viitorii lor hibrizi, pot avea aplicații tehnologice interesante (capitolul 10).

## 5.2.4. Proteine asociate microtubulilor (MAP)

Gama completă de funcții MT este realizată prin acțiunile diferitelor proteine care se leagă în moduri precise de dimeri specifici de tubulină în rețelele MT. Aceste proteine asociate microtubulilor (MAPs) includ enzime electromecanice care generează forță și mișcare, punți de legătură comunicative către alte filamente citoscheletice și organite, MAPs care îmbunătățesc asamblarea MT (Figura 5.12) și o clasă de MAPs în neuroni ale căror funcții nu sunt înțelese.

În multe cazuri, modelele de atașare ale MAPs la pereții rețelei MT au o configurație geometrică precisă, care pare legată de funcția complexului MAP-MT (Figurile 5.13 până la 5.16).

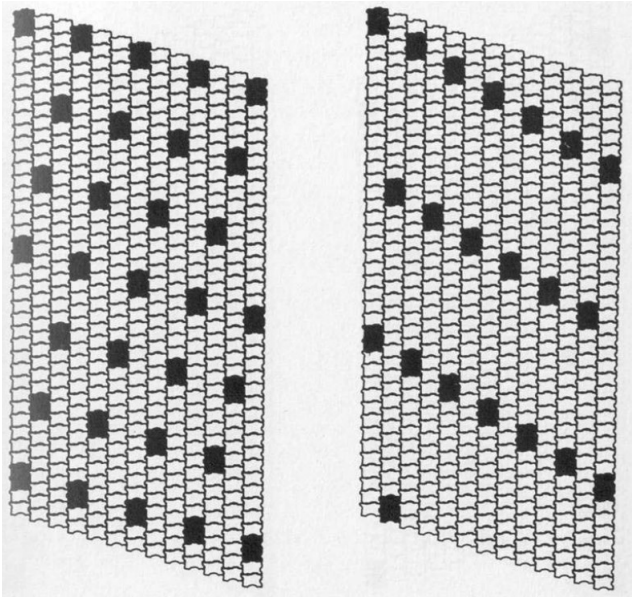

*Fig. 5.13: Modele de atașare a MAP la microtubuli observate prin microscopie electronică (Burns, 1978; Kim et al, 1986; și alții).*

De exemplu, Allen (1979, 1985) și colegii săi au arătat că trecerea lină a veziculelor în transportul axoplasmic necesită MAPs contractile distanțate între 15 și 25 de nanometri de-a lungul lungimilor MT. Multe alte modele de legare a MAPs sunt spirale care se înfășoară în jurul cilindrilor MT în super-elice și mai multe teorii sugerează modul în care aceste site-uri pot fi determinate. Acestea includ secvențierea liniară a izoenzimelor de tubulină variabile de-a lungul protofilamentelor (Kim, 1986), simetria cristalului care descrie fiecare teren MAP (Figura 5.17, Koruga, 1986) sau prin pașii de rețea necesari pentru a ajunge de la un site MAP la următorul său vecin MAP. De exemplu, micrografiile electronice ale legării MAP-MT de către Burns (1978) arată

în mod clar legarea MAP care poate fi descrisă ca „peste 3, în sus 1”. Adică, dacă subunitatea de tubulină de care este legat MAP este punctul de plecare, deplasarea a 3 monomeri de-a lungul elicei rândului spre stânga, apoi în sus cu 1 monomer de-a lungul protofilamentului va indica următorul site de atașare. Un număr de modele geometrice super-elicoidale au fost observate care se potrivesc altor reguli de mișcare „ca la șah”. Acestea sunt prezentate în figurile 5.12-5.15. În alte cazuri, cum ar fi MAPs din creier, modelele de atașare sunt neregulate și eterogene și, prin urmare, sunt capabile să reprezinte informații.

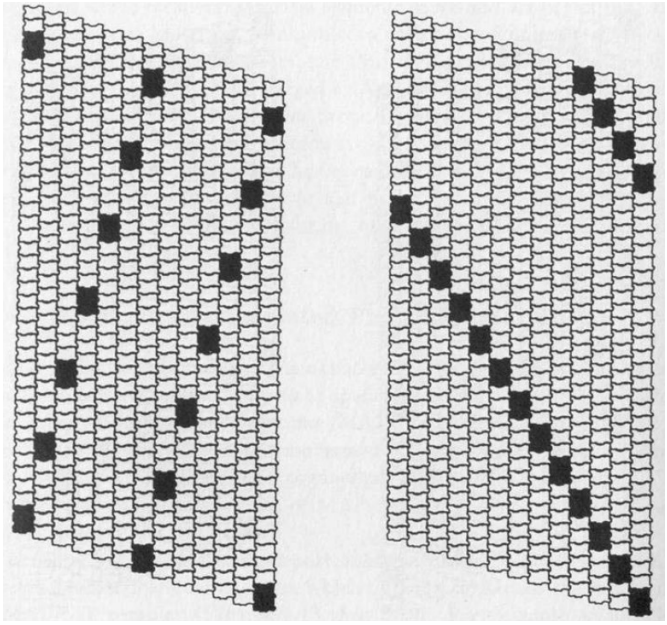

*Fig. 5.14: Modele de atașament MAP.*

Podurile în formă de tijă care apar între MT sunt de cel puțin două feluri. "Brațele" proteice care produc mișcare și care consumă energie de hidroliză ATP pentru a genera forță sunt analoge cu punțile de miozină ale mușchiului scheletic. Brațele în mișcare atașate la MT sunt alcătuite din proteine numite kinezină și dynein. Brațele de dyneină pe MT care se contractă în secvențe organizate pentru a produce mișcări colective au fost descrise și caracterizate pentru prima dată în cili și flagelă de Ian Gibbons (1968). Brațele se află la intervale periodice de-a lungul MT-ului exterior din cili și flageli. Ele posedă "activitate ATPază", adică se contractă conformațional datorită hidrolizei ATP. Brațele de dyneină se contractă în unde și mediază alunecarea dintre tubulii exteriori adiacenți pentru a conduce motilitatea ciliară și flagelară. Brațele de dyneină atașate la MT în axonii neuronali acționează colectiv pentru a transmite material în transportul axoplasmic "brigadă de găleți". Acestea și alte "brațe laterale" MT vor fi discutate în Secțiunea 5.5.2.

Alte MAP-uri sunt punți între MT-uri paralele, filamente, organite și "rețeaua microtrabeculară" și par să integreze microtubulii cu restul citoplasmei (Figura 5.6). MAP-urile din neuronii cerebrali de mamifere au fost caracterizate în trei grupuri principale. Acestea sunt MAP-uri cu greutate moleculară mare (mai mare de 100 kilodaltoni) MAP 1 și MAP 2 și un număr de proteine strâns legate de 56-62 kilodaltoni, denumite "*tau*". Studiile la șobolani arată o creștere a numărului și o distribuție modificată a diferitelor forme de tubulină, MAP-uri cu greutate moleculară mare și **tau**, care se corelează cu dezvoltarea și învățarea creierului de șobolan. Atât MAP 2, cât și **tau** sunt stabile la căldură, stimulează polimerizarea MT (Cc mai mic) și împărtășesc domenii de legare pe MT intacte; acestea sunt familii de proteine eterogene ale căror funcții sunt necunoscute. MAP 2 este concentrat în corpurile celulare și dendritele neuronilor, găsite într-un raport de MAP 2 la tubulină de unu la doisprezece, apare în cantități mici în axoni și este absent în *glie*. Invers, **tau** cerebral este în mare parte confinat la axoni. Atât MAP 2, cât și **tau** sunt fosforilate de kinaze de proteine dependente de AMP ciclic, proteine care amplifică efectele ionilor de calciu. Nivelurile intracelulare de ioni de calciu, la rândul lor, sunt reglementate de diverse semnale extracelulare, inclusiv neurotransmițători, hormoni și factori electrici, pentru a regla forma celulei,

motilitatea, procesele secretorii şi alte funcţii. Astfel, aceste MAP-uri pot media intrări diverse în citoschelet. Fiecare MAP ataşat la un MT poate funcţiona ca o "sinapsă" într-o reţea paralelă, interconectată lateral.

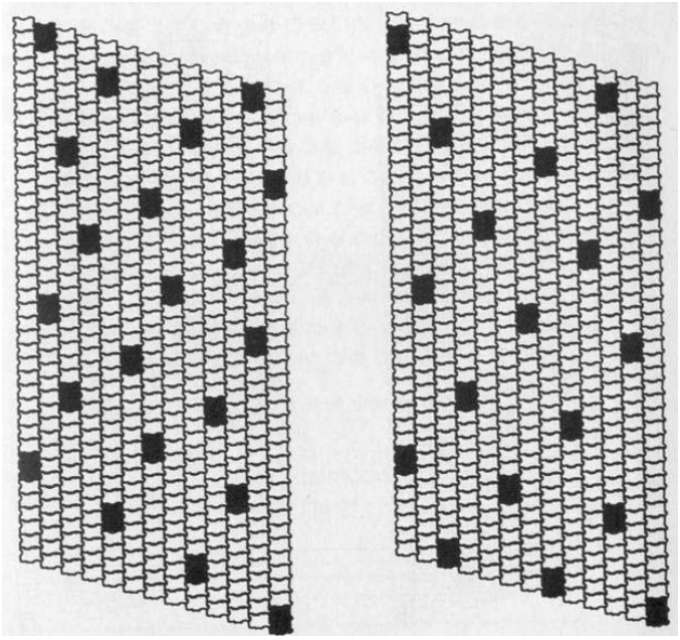

*Fig. 5.15: Modele de ataşament MAP.*

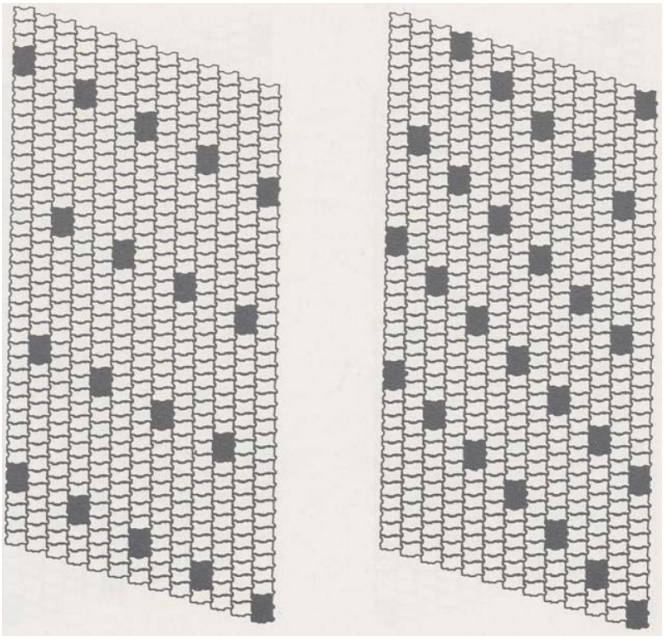

*Fig. 5.16: Modele de ataşament MAP.*

Eterogenitatea **tau** variază în timpul dezvoltării creierului, iar aceste modificări duc la predominarea diferitelor polipeptide **tau** în cortexul cerebral şi cerebelul matur. Binder, Frankfurter şi Rebhun (1986) propun că locurile de legare a MAP 2 rezultă din forme de tubulină determinate genetic, care sunt predominante în corpurile celulare neuronale şi dendrite, în timp ce domeniile de legare a **tau** sunt specificate de tubulinele axonale. Ei suspectează că diferitele specii de **tau** care apar în timpul dezvoltării pot anunţa diferenţierea citoscheletală a subpopulaţiilor axonale unice ale căror MT sunt angajate în sarcini uşor diferite. Variabilitatea şi responsabilităţile MT pot fi extinse. Acestea sunt anexe funcţionale, legături structurale şi comunicative („arbitri”) şi integratori esenţiali ai funcţiei citoscheletice şi celulare.

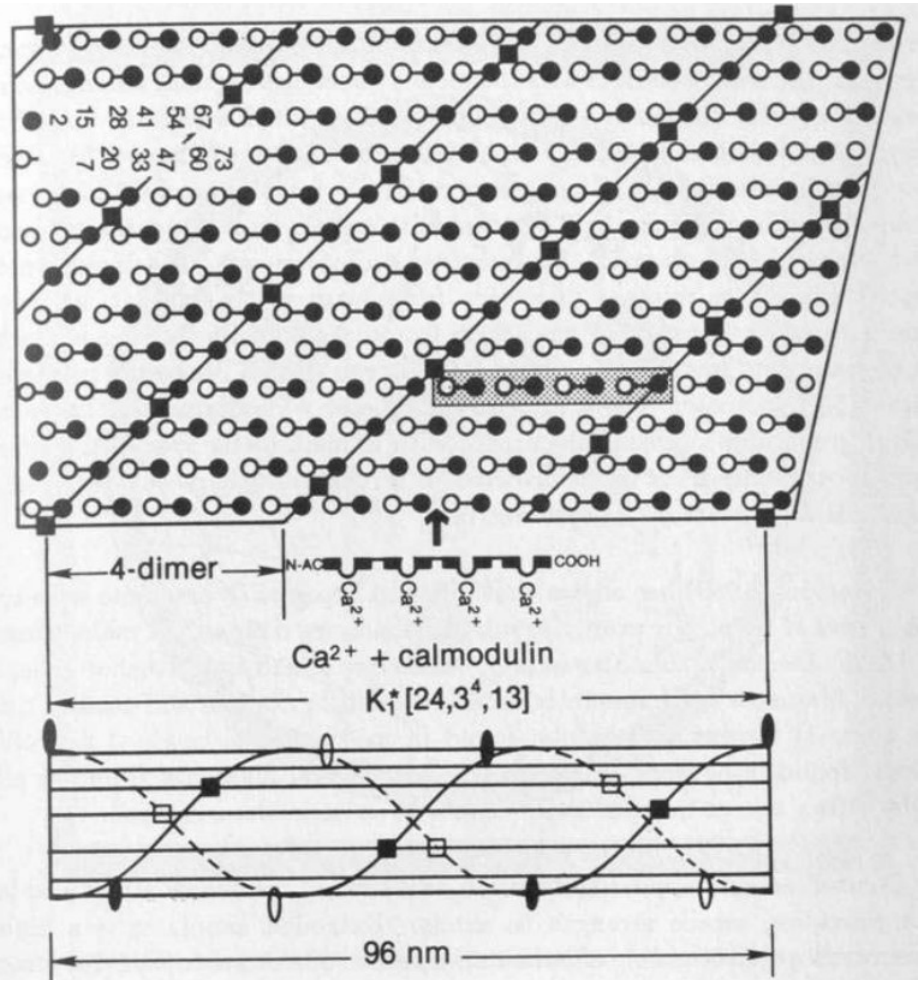


*Fig. 5.17: Modele de atașare MAP ca parte a codului de informații microtubulare Koruga (1986) (capitolul 8). Cu permisiunea lui Djuro Koruga*.

## 5.3 Filamente intermediare

Componentele filamentoase majore ale citoscheletului sunt MT, filamentele de actină, filamentele intermediare (IF) și o clasă de fibrile delicate de interconectare numite rețea microtrabeculară (MTL) care vor fi descrise mai târziu în acest capitol. Aici sunt trecute în revistă membrii "necunoscuți" ai citoscheletului, filamentele intermediare (Lazarides, 1980). Filamentele intermediare reprezintă subgrupul cel mai nebulos și cel mai variabil din punct de vedere chimic din cadrul citoscheletului. S-au distins cinci clase de IF care sunt construite din polipeptide conținând în principal domenii de tijă alfa helix (capitolul 6). La microscopul electronic, IF apar ca filamente neramificate, relativ lipsite de caracteristici, cu o lățime de 8-12 nanometri. Tratamentul cu anumiți agenți de fixare poate determina IF să se desprindă în mai multe protofilamente de 2-3 nanometri sau protofibrile de 4-5 nanometri, al căror număr poate varia de la un filament la altul și chiar de-a lungul aceluiași filament. IF se poate forma din înfășurarea paralelă a domeniilor alfa helix și, în anumite circumstanțe, poate forma o rețea poligonală cu o repetiție de 52 nanometri de filamente cu lățimea de 8-10 nanometri. Acestea se pot agrega, de asemenea, în rețele cristaline cu benzi transversale distanțate de 24 nanometri. Ca atare, IF poate fi implicat în structuri descrise altfel ca rețea microtrabeculară sau citomatrix.

Lazarides (1980) a demonstrat că diferite tipuri de IF se asociază cu tipuri specifice de celule. De exemplu, structura subunității definește cinci clase majore de IF: 1) keratină ("tonofilamente"), care se găsește în celulele epiteliale, 2) filamente de desmină predominante în celulele musculare netede, scheletice și cardiace, 3) filamente de vimentină, găsite în celulele

mezenchimale, 4) neurofilamente, găsite în neuroni (Figura 5.18) şi 5) filamente gliale, găsite în celulele gliale.

Adesea, două sau mai multe dintre aceste clase coexistă în aceeaşi celulă. Neurofilamentele par să funcţioneze ca o reţea structurală tridimensională, oferind rezistenţă la tracţiune axonilor. Axoplasma extrudat este un gel extrem de structurat, bogat în neurofilamente; expunerea gelului la ioni de calciu duce la degradarea neurofilamentelor şi la transformarea gelului într-o stare sol mai apoasă, un fenomen atribuit în general dizolvării filamentelor de actină.

Toate IF, inclusiv neurofilamentele, par să fie fosforilate, deşi funcţia pe care aceasta ar putea să o servească nu este înţeleasă. IF sunt o clasă distinctă separată de MT şi filamentele de actină, iar Lazarides argumentează că proprietăţile lor biochimice şi morfologice indică faptul că sunt implicate în integrarea mecanică a diferitelor componente ale spaţiului citoplasmatic. IF rămân slab înţelese; prezenţa lor densă în neuroni este misterioasă, poate că participă într-un fel la funcţiile cognitive ale sistemului nervos. În Capitolul 8, teoria lui Barnett despre neurofilamente ca "bănci de memorie cu transformare de şir" cuplate la MT va fi descrisă.

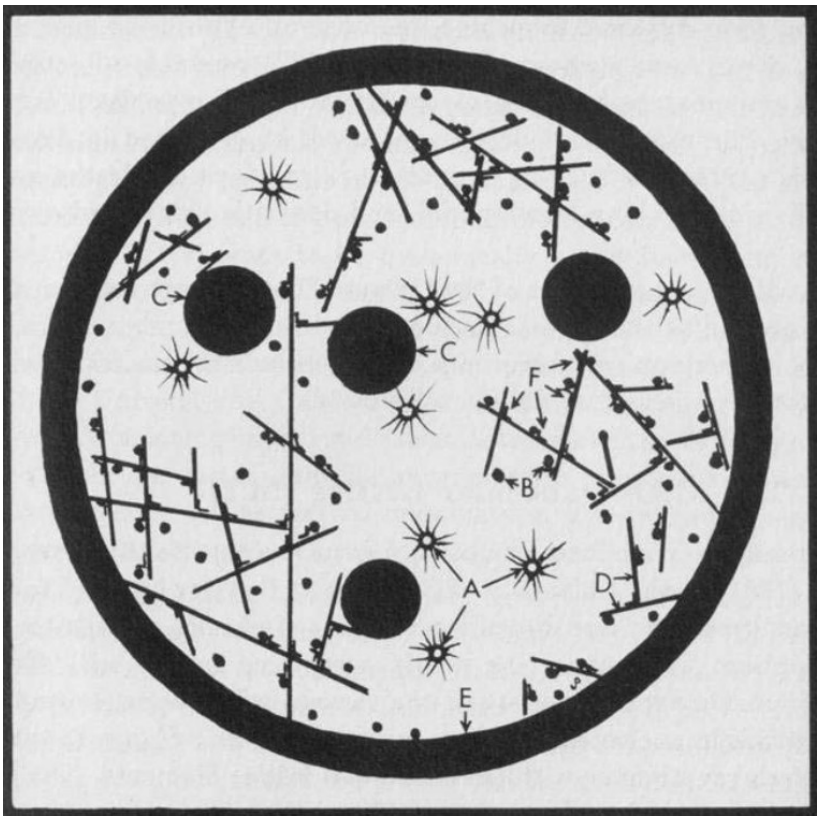


*Fig. 5.18: Secţiune transversală a unui axon nervos mic. **A**. Microtubuli cu MAP radiale. **B**. Neurofilamente, mai numeroase decât microtubulii cu aproximativ 10:1. **C**. Vezicula fiind transportată prin transport axoplasmatic de microtubuli. **D**. Gel reticulat de actină/neurofilamente (reţea microtrabeculară), **E**. Straturi de mielină. **F**. Filamina între suporturi de actină. De Paul Jablonka.*

## 5.4 Substanţa de bază citoplasmatică

MT şi IF nu sunt cea mai fină textură a organizării citoplasmatice. Structuri mai mici şi mai delicate se ramifică şi se interconectează în reţele în stare de "gel" care alcătuiesc substanţa materiei vii.

Trei sisteme distincte de componente citoscheletice au fost bine caracterizate: MT, IF şi filamentele de actină. Actina este cea mai versatilă componentă. Împreună cu alte proteine, ea se poate polimeriza în filamente de tip şir, poate forma reţele dinamice ramificate la scară nanometrică sau poliedre geodezice. Chiar mai evanescent decât MT labil, ansamblul de actină şi proteine

asociate creează configurații tranzitorii ale citoplasmei pentru scopuri specifice. Este foarte posibil ca rădăcinile inteligenţei să se afle în expresii citoplasmatice dinamice, cum ar fi inelele contractile care împart citoplasma în timpul diviziunii celulare, lamelipodele de sondare, spinii dendritici şi sinapsele din neuroni.

Natura şi structura "subsolului" organizării, substanţa citoplasmatică de bază, a fost explorată dintr-o serie de orientări, rezultând descrieri suprapuse. Acestea includ rețeaua microtrabeculară, citomatricea şi starea solidă citoplasmatică.

## 5.4.1 Rețeaua microtrabeculară (MTL)

Noile tehnici în microscopia electronică dezvoltate de Keith Porter şi colegii (1981) la Universitatea din Colorado la Boulder au dus la observarea unei rețele tridimensionale neregulate de fire subțiri în toată citoplasma, interconectând aproape totul din celulă. Filamentele interconectate par să suspende diversele sisteme celulare, organitele şi elemente citoscheletice mai mari, cum ar fi microtubulii şi filamentele cu un material matriceal continuu cu filamentele individuale ale rețelei. Rețeaua sugerează structura trabeculară a osului spongios şi a fost numită rețeaua microtrabeculară (MTL, Figura 5.19).

Porter şi colegii au profitat de proprietăţile microscopului electronic de înaltă tensiune de la Boulder. Acest dispozitiv masiv este capabil să accelereze electronii printr-o cădere de potențial de un milion de volți, de zece ori mai mult decât microscoapele electronice standard. Tensiunea suplimentară oferă electronilor suficientă energie pentru a pătrunde în probele groase sau chiar în celule intacte de până la câteva mii de nanometri grosime. Anterior, celulele trebuiau tăiate în secțiuni mai subțiri de 200 de nanometri, iar artefactele datorate distrugerii celulare erau mai prevalente. Microscopul electronic de înaltă tensiune oferă mai multe informații despre adâncime, oferind o vedere tridimensională a organizării celulare. O altă inovație, metoda de uscare la punct critic (Ellisman, 1981) evită efectul de deformare al tensiunii superficiale, care face ca celulele să se prăbuşească atunci când sunt uscate în aer. Microscopia electronică de înaltă tensiune şi uscarea la punct critic au demonstrat acum MTL în toate celulele eucariote care au fost examinate.

MTL este o rețea tridimensională de fire subțiri numite microtrabeculi. Acestea variază în diametru de la 4 la 10 nanometri, cu lungimi de la 10 la 100 de nanometri. MTL este o rețea fin organizată care împarte substanţa de bază în două faze, o fază polimerizată bogată în proteine, care cuprinde MTL, şi o fază fluidă bogată în apă, care umple spațiile intratrabeculare. La mărire mare, microtrabeculii substanței de bază se observă că încrucişează multe elemente din citoplasmă. De exemplu, ei conectează microtubulii cu reticulul endoplasmatic neted. MTL nu numai că încrucişează, dar pare să fie dinamic activ în mişcarea elementelor prin citoplasmă. MTL dinamic mişcă materialul într-un mod saltatoriu la viteze echivalente cu transportul axoplasmic. Un co-pionier cu Porter în observarea structurii de bază citoplasmatice, Mark Ellisman (1981) de la Universitatea din California la San Diego, a observat că MT şi filamentele sunt analoge elementelor scheletice rigide, cum ar fi osul, şi că rețeaua microtrabeculară poate fi echivalată în mod corespunzător cu componentele care produc muncă, cum ar fi musculatura scheletică. Astfel, Ellisman sugerează că o descriere mai adecvată a MTL ar putea fi „citomusculară”.

În neuroni, firele subțiri MTL radiază de la MT şi neurofilamente la unghiuri drepte în citoplasmă, interconectând adesea MT cu alte MT şi neurofilamente cu neurofilamente. La sinapsă, MTL pare implicat intim atât în eliberarea neurotransmițătorilor, cât şi în mecanismele receptorilor postsinaptici. Terminațiile presinaptice demonstrează o încrucişare MTL notabilă între veziculele sinaptice şi între vezicule şi membranele sinaptice. În dendritele postsinaptice MTL, legăturile sunt vizibile între densitățile subsynaptice filamentoase şi celelalte elemente ale citoplasmei dendritice. Acolo unde citoplasma axonală intră în regiunile sinaptice, au loc tranziții sub forma MTL. În axoni, încrucişările sunt clar evidențiate între MT, filamente şi alte componente. Cu toate acestea, în terminațiile presinaptice şi dendrite, rețeaua MTL este mai similară ca structură cu gelurile de actină-miozină izolate observate în celulele non-neuronale. Raymond Lasek (1981) de la Universitatea Case-Western Reserve a arătat că citoplasma conurilor de creştere axonală nervoasă, care diferă de citoplasma axonală, este convertită rapid de la soiul axonal la soiul conului de

creştere în axoni separaţi de corpurile celulare. Astfel, factorii „locali” par capabili să transforme axoplasma în citoplasma terminală sinaptică sau axoplasma în citoplasma conului de creştere. MTL este structura fină şi textura citoplasmei.

Activităţile MTL par să fie dependente de concentraţia ionilor de calciu. Lucrările lui Ellisman arată că o expunere ridicată la calciu determină scurtarea şi deformarea MTL, lăsând capete libere sau „nubbins”. În axoplasma normală, diferite forme de MTL care corespund atât unei concentraţii ridicate, cât şi unei concentraţii scăzute de ioni de calciu par să fie găsite simultan. Acestea pot corespunde stărilor „sol” şi „gel” determinate prin alte tehnici. Ellisman sugerează că calciul poate fi agentul de cuplare pentru aspectele dinamice ale MTL în ceea ce priveşte localizarea, amploarea şi forma de încrucişare a constituenţilor celulari. Calciul reglat de structurile citoscheletale sau de membrane, precum şi de MTL în sine poate fi dinamic şi modelat la nivel local. Undele staţionare, modelele disipative sau hologramele „încorporate” în MTL ar putea fi reprezentări ale stărilor de cuplare a calciului în citoplasmă.

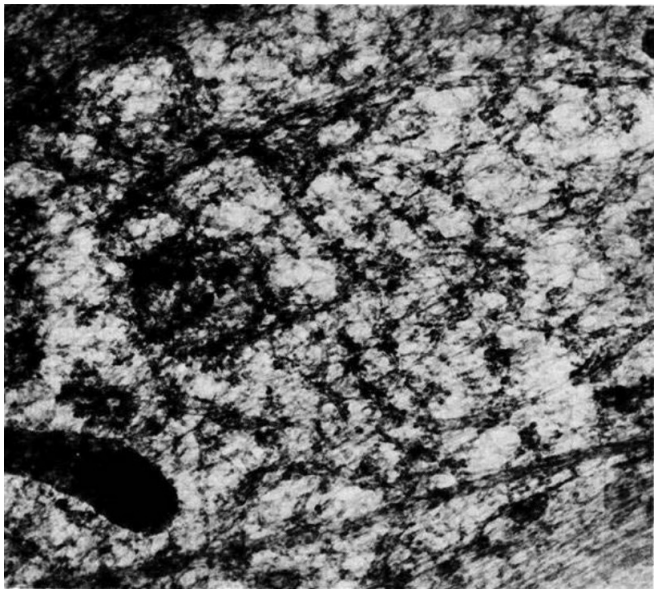

*Fig. 5.19: Reţea microtrabeculară (MTL) în citoplasma celulelor PtK2. Microtubulii pot fi observaţi (unul crescând de la stânga la dreapta în partea de jos) în fundalul reţelei microtrabeculare (MTL). Două particule de aur de 40 nanometri sunt prinse într-o veziculă din MTL. Cu permisiunea lui DeBrabander (1985).*

Ellisman ridică întrebarea despre importanţa citoscheletului şi a MTL în sistemul nervos. O consideraţie este modularea evenimentelor legate de membrană, cum ar fi activitatea receptorilor şi extrudarea neurotransmiţătorilor. Ellisman propune ca MTL să fie declanşat de ioni de calciu pentru a elibera veziculele neurotransmiţătoare. În plus, MTL participă şi la alte funcţii citoscheletice, implicând MT şi filamente. Acestea sunt transportul axoplasmic, turnover-ul şi menţinerea proteinelor şi receptorilor de membrană, precum şi disponibilitatea neurotransmiţătorilor şi enzimelor la sinapse. Ellisman a prezis unele dintre funcţiile şi/sau comportamentul citoscheletului şi MTL în cadrul sistemului nervos. Acestea sunt: 1) MTL este un substrat pentru a menţine modificările formei celulare, inclusiv formarea sinaptică şi pentru a regla proprietăţile excitabile ale neuronilor. Un exemplu ar fi modificările distribuţiei şi volumului spinilor dendritici şi sinapselor cu implicaţii pentru conexiunile sinaptice şi, eventual, pentru învăţare şi memorie. Astfel, MTL şi alte elemente citoscheletice pot modifica funcţia sinaptică prin participarea la menţinerea trofică şi la turnover-ul proteinelor de membrană pentru a modula excitabilitatea membranei şi semnalizarea neuronală. 2) MTL, conform lui Ellisman, poate, de asemenea, tampona moleculele mici şi ionii, menţinându-le în locaţii şi modele specializate pentru funcţii metabolice şi electrice. Astfel, MTL poate compartimenta celula, formând regiuni ale căror medii pot varia. Tamponarea şi controlul fluxului de ioni de calciu pot fi deosebit de importante şi se referă direct la funcţiile cognitive. 3) MTL poate diferenţia zone specifice ale citoplasmei şi membranei, de exemplu, controlând tipurile

de receptori sau canale din zonele sinaptice prin legături citoscheletice specifice. MTL și citoscheletul controlează, de asemenea, distribuția organitelor, de exemplu, împiedicând reticulul endoplasmatic să pătrundă în axoni, restricționând aparatul Golgi la zonele perinucleare și menținând butonul sinaptic cu compoziția corectă a axoplasmei. 4) MTL poate media dezvoltarea embriologică sau morfogeneza prin legături cu receptori specifici de hormoni sau factori tisulari, rezultând variații ale modelelor de dezvoltare. 5) MTL poate traduce munca chimică sau mecanică pentru transportul intracelular și procese precum transportul axoplasmic și translocarea veziculelor sinaptice către site-urile de eliberare de pe membrana presinaptică. Pentru Ellisman, MTL reglează restul citoscheletului și celula în general. În opinia sa, este substanța de bază dinamică capabilă de comportament inteligent. S-ar putea argumenta, totuși, că MT reglează MTL. Ceea ce este mai semnificativ este întrebarea despre modul în care comunică.

Cel mai labil și tranzitoriu dintre nivelurile de organizare citoscheletice, MTL este microfrontiera actuală a organizării materialului viu. MTL este o rețea în cadrul unei rețele de proteine citoscheletice care, în cazul sistemului nervos, este o rețea în cadrul unei rețele de neuroni. În capitolul 8, va fi discutat un model de procesare a informațiilor în care MTL reprezintă modele de unde staționare de stări sol-gel cuplate cu calciu, rezultate din excitări dinamice ale citoscheletului. Excitările coerente în citoschelet ar putea duce la unde staționare "holografice" care pot fi nivelul de jos al unei ierarhii de informații: "infoplasmă". O imagine analogică în care MTL este atât vopsea, cât și pânză ar putea fi textura conștiinței.

## 5.4.2. Cito-matricea

Alții au analizat structura fină a citoplasmei și au descris-o în termeni diferiți. Printre aceștia se numără Peter Satir (1984) de la Universitatea Albert Einstein, a cărui lucrare s-a concentrat pe compoziția proteică și organizarea funcțională a MTL, sau „citomatrix”. Satir vede o integrare funcțională a citomatrixului, remarcând că interacțiunile proteină-proteină au consecințe geometrice, precum și biochimice și biofizice. Anumite interacțiuni apar doar la capetele polimerilor cito-scheletali, altele necesită sau produc aranjamente paralele ale acestor elemente prin interacțiunea doar cu suprafețele lor laterale, iar altele pot necesita aranjamente ortogonale. În concert cu centriolii, MTOC și MT, structurile citoplasmatice apar și funcționează unde și când este nevoie.

Unitatea de bază a citomatrixului/MTL pare a fi actina, o proteină ubicuitară a cărei versatilitate descrie însăși natura citoplasmei. Interacțiunea cu o varietate de alte proteine („proteine care se leagă de actină”) dezlănțuie capacitățile complete ale actinei. Când sunt încrucișate de proteine precum fimbrina, actina poate forma fascicule rigide care oferă suport structural. Când este asociată cu miozina (o „meșanoenzimă”), are loc o contracție utilă asemănătoare mușchilor. De asemenea, importante sunt proteine precum talina, spectrina, vinculina, ankirina și fodrina, care conectează citomatrixul cu proteinele de membrană, și calmodulina, care mediază efectele fluxurilor de ioni de calciu asupra citomatrixului.

Proteine precum alfa actinina, troponina și filamina leagă actina în rețele care provoacă o consistență gelatinoasă a citoplasmei - un „gel” (Figura 5.20). În prezența ionilor de calciu și a proteinelor de fragmentare a actinei, cum ar fi vilina și gelsolina, rețeaua gel se lichefiază într-o soluție - „sol”. Alte proteine de reglare a actinei includ proteinele de acoperire a actinei, care stabilizează actina polimerizată și promovează o stare de „gel”, și profilina care leagă subunitățile de actină, previne polimerizarea și menține condițiile de „sol”. Stratul de citoplasmă imediat sub membranele celulare se află într-o stare continuă de gel („gel cortical”), dar în alte părți pot apărea tranziții dinamice. În prezența miozinei, gelurile de actină pot suferi contracție și curgere care sunt importante în mișcarea citoplasmatică, cum ar fi locomoția ameboidă. Miozina pare să tragă filamentele de actină unele împotriva altora. O creștere a ionilor de calciu provoacă o scădere bruscă a viscozității rețelelor de actină, prin proteinele de fragmentare a actinei, cum ar fi gelsolina. Aceeași creștere a calciului activează miozina pentru a trage filamentele de actină unele împotriva altora, rezultând contracția gelului și curgerea viguroasă în regiunile „sol” adiacente. George Oster (1984) de la Universitatea din California, Berkeley, a descris un mecanism pentru mișcarea

ameboidă în care undele de ioni de calciu declanşează regiuni tranzitorii sol/gel. Fluxul net de material este către fluxul de calciu, care serveşte la tragerea celulei înainte.

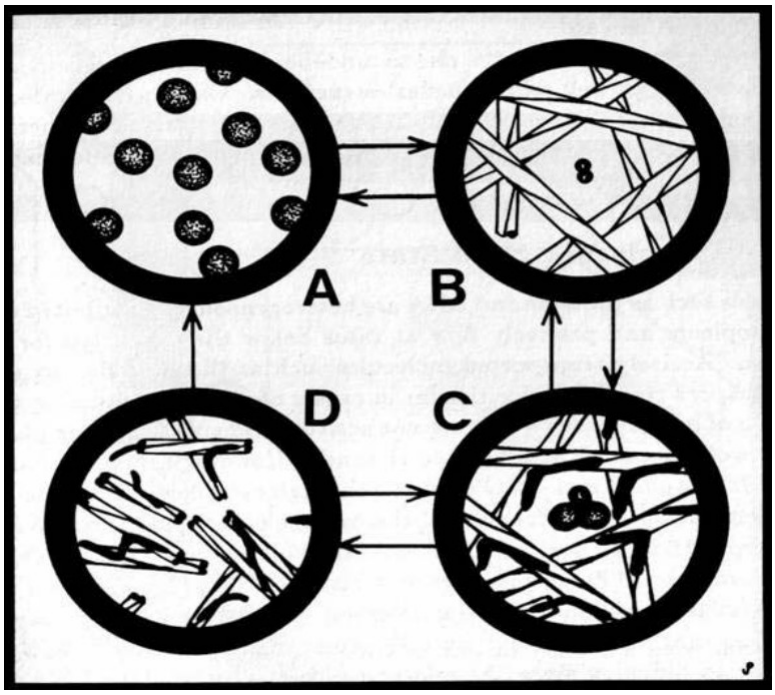


*Fig. 5.20: Componentele citomatricei. Ansamblul de actină şi proteine înrudite formează stări de „gel" citoplasmatic. A) actină monomerică, B) filamente de actină asamblate care sunt perechi elicoidale de fire monomerice; secţiune transversală centrală a filamentului de actină, C) prezenţa ilaminei (firele întunecate) determină reticularea actinei şi „starea de gel" densă, D) calciul şi/sau proteinele care fragmentează actina determină lichefierea la o „stare de sol". De Paul Jablonka*.

Structurile citomatricei dau naştere amoeboidelor şi altor tipuri de mişcare citoplasmatică, precum şi structurilor poliedrice. Tranziţia sol-gel mediată de calciu şi contracţia gelului pot fi importante în multe funcţii celulare, inclusiv probabil reprezentarea tranzitorie a informaţiilor şi memoriei pe termen scurt în neuroni.

## 5.4.3. Starea solidă citoplasmatică

Moleculele precum proteinele şi ARN-ul sunt distribuite eterogen în citoplasmă şi curg pasiv la viteze mai mici decât cele aşteptate pentru difuzia normală. Moleculele transportate activ, precum cele transportate prin transportul axoplasmic, călătoresc cu viteze mult mai mari decât difuzia. Iniţial, difuzia lentă a biomoleculelor care nu sunt transportate activ a fost explicată pe baza barierelor şi canalelor citomatrix. Cu toate acestea, Gershon, Porter şi Trus (1985) au studiat difuzia moleculară prin citoplasmă şi au ajuns la o concluzie diferită. Ei au constatat că citoscheletul/citomatrixul/MTL cuprinde între 16 şi 21 la sută din volumul citoplasmatic şi că suprafaţa citoscheletului/citomatrixului/MTL era cuprinsă între 69.000 şi 91.000 de microni pătraţi per celulă (69 până la 91 de miliarde de nanometri pătraţi). Datele lor au fost interpretate ca sugerând că „starea solidă" a celulei (citoscheletul/citomatrixul/MTL) nu este o barieră în calea difuziei, deoarece faza apoasă ocupă 4/5 din volumul celular. Ei concluzionează că proteinele şi alte molecule sunt legate dinamic de starea solidă, ceea ce explică difuzia lentă (Figura 5.21).

Biologul James Clegg (1981) a discutat modul în care legarea enzimelor „solubile" de starea solidă ar putea explica eficienţa diferitelor procese enzimatice. O secvenţă de enzime într-o cale biochimică complexă este mult mai eficientă dacă este aranjată fizic, astfel încât să apară o cascadă de produse de reacţie. Dacă produsul unei enzime este precursorul pentru enzima vecină, timpul de transfer este minimizat şi reacţiile sunt facilitate util. Acest lucru permite, de asemenea, posibilitatea unei reglări dinamice a acestor enzime de către structurile în stare solidă. Clegg a acumulat, de asemenea, dovezi cu privire la rolul apei în citoplasmă, în special în jurul structurilor în stare solidă.

Folosind difracția neutronilor și alte tehnici, Clegg a descoperit că apa adiacentă citomatrixului este „ordonată", adică aliniată cu legăturile polare de pe suprafețele proteinelor. Astfel, un strat de apă ordonată se extinde la cel puțin 3 nanometri de la miliardele de nanometri pătrați de suprafață în stare solidă din fiecare celulă. Această apă ordonată poate fi cuplată prin oscilația dipolilor cu dinamica stării solide, inhibă disiparea termică a energiei de oscilație a proteinelor din interiorul stării solide și protejează calciul și alți ioni de interacțiunile aleatorii în stare solidă. Clegg sugerează, de asemenea, că straturi suplimentare de apă ușor mai puțin ordonată („apă vicinală") care se extind mai departe de starea solidă ar limita apa „apoasă" reală din celule la „canalele de canalizare" celulare înguste.

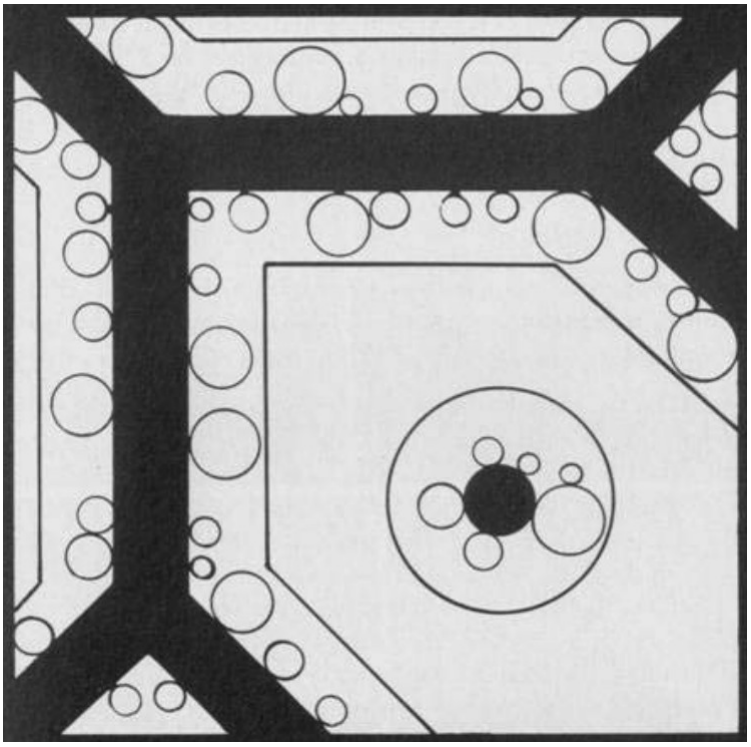

*Fig. 5.21: Enzime intracelulare „solubile" (cercuri) guvernate de rețeaua microtrabeculară (MTL: solid închis) și regiunea limitrofă de apă ordonată și vicinală (în interiorul liniei subțiri). Cercul întunecat face parte dintr-o vedere în secțiune transversală. Clegg (1981) a propus că activitatea dinamică din cadrul MTL poate regla activitatea enzimatică. De Paul Jablonka.*

Este MTL/cytomatrix microfrontiera finală a organizării biologice? Tehnicile actuale de imagistică nu ar putea dezvălui niveluri mai mici de organizare, la fel cum a fost nevoie de progrese în microscopia electronică pentru a descoperi mai întâi citoscheletul MT și apoi MTL. Poate că ar putea fi prezente rețele mai mici și mai complicate, mergând până la nivelul filamentelor peptidice unice. Cu straturi de apă ordonată și ioni încărcați, o astfel de "infoplasmă" în stare solidă ar putea ocupa aproape întregul volum al materialului biologic.

## 5.5. Motilitatea citoscheletală

Albrecht-Buehler(1985):

> Mişcarea celulelor ... pare să fie determinată de un fel de computer chimic, a cărui natură este dincolo de înțelegerea noastră actuală.

Motilitatea celulară a fost descoperită de van Leeuwenhoek, care a observat spermatozoizi propulsați de flageli înotând în secolul al XVII-lea. O varietate de mișcări citoplasmatice includ "amoeboid" târâre peste o suprafață, curgere internă, transport axoplasmatic, contracția musculară, îndoirea ciliară și flagelară și modificări ale formei celulare. Aceste manevre sunt toate generate de

un grup relativ mic de proteine, ale căror efecte colective nete pot fi destul de spectaculoase. De exemplu, limfocitele şi macrofagele sunt globule albe care combat infecţiile prin migrarea din fluxul sanguin într-o rană deschisă pentru a îngloba bacteriile invadatoare sau materialul străin. Celulele embrionilor în dezvoltare efectuează mişcări precis coregrafiate care dau naştere diferitelor ţesuturi. Mişcarea internă, cum ar fi curgerea citoplasmei, secreţia de vezicule de produse celulare (adică neurotransmiţători), înglobarea materiei şi separarea cromozomilor pereche în diviziunea celulară, sunt funcţii de rutină a căror complexitate, organizare şi precizie îi uimesc în general pe biologi.

De asemenea, contracţia musculară bine controlată, care depinde de îndoirea conformaţională a moleculelor capului de miozină, poate duce la alergarea intensă a unui kilometru în 4 minute sau la pictarea delicată a unei Mona Lisa. Vor fi luate în considerare patru categorii de mişcare citoplasmatică şi generare de forţă, cu atenţie la mecanismele lor de reglare. Acestea sunt: sondarea citoplasmatică, braţe laterale de îndoire, mişcări ciliare şi colective şi structuri geodezice de tensegritate.

## 5.5.1. Sondarea citoplasmatică

La începutul secolului al XX-lea, W. H. Lewis, un embriolog la Carnegie Institute of Washington, a realizat filme în *time-lapse* despre celule crescute în cultură (Lazarides şi Revel, 1979). Lewis a tratat fibroblastele (celule active care repară rănile) cu enzime care descompun proteinele pentru a rupe contactele adezive şi reţelele de material extracelular care ţineau celulele împreună. El a separat aglomerările rezultate şi a cultivat celule individuale într-un mediu nutritiv. După câteva ore, fibroblastele lui Lewis au dobândit o formă poligonală. De-a lungul laturii celei mai scurte a poligonului se aflau lamellipodii, extensii delicate, asemănătoare unei foi, ale citoplasmei. El a exclamat: „lamellipodiile încreţite se îndoaie încet înainte şi înapoi ca volanele unei rochii într-o uşoară adiere” (Lazarides şi Revel, 1979). Mai târziu, Ingram şi Abercrombie de la University College London au studiat lamellipodium-ul încreţit acoperit de membrană, principalul organ de locomoţie al fibroblastelor. Lamellipodium-ul formează şiruri şi contacte cu substratul pe care se sprijină celula, întinzând porţiuni din restul celulei printre mai multe adeziuni temporare. Când celula este întinsă la maximum, ea menţine una sau două cute primare, fiecare dintre acestea având tendinţa de a conduce celula într-o anumită direcţie. Celula migrează apoi cu schimbări de direcţie care apar de obicei la intervale de câteva ore. Dacă o cută nu se lipeşte şi celula se mişcă într-o altă direcţie, cuta se pliază înapoi pe suprafaţa superioară a celulei, se prăbuşeşte pe ea şi dispare în celulă (Figura 5.22, 5.23 şi 5.24).

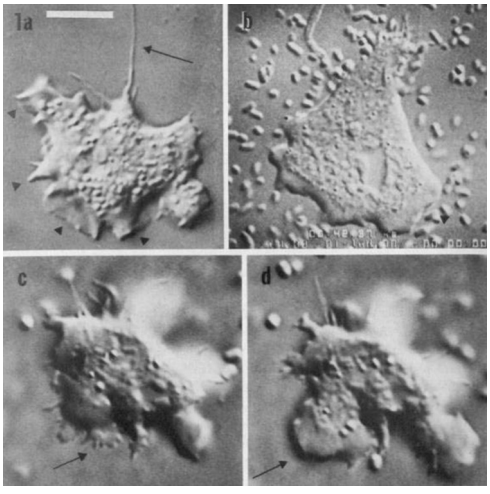


*Fig. 5.22: Mişcarea amoeboidelor într-o serie time-lapse de U. P. Roos de la Universitatea din Zurich. 1a) Lamelipodia de sondare (vârfuri de săgeată) în direcţia mişcării celulei. Fibra de retracţie (săgeată) arată capătul din spate al celulei, b) citoplasma a curs pentru a umple lamelipodele. c) Filopodele în formă de degete (săgeată) sondează direcţia, d) citoplasma avansează, mişcând celula. Cu permisiunea lui U. P. Roos (1984).*

Folosind microscopul electronic, Lazarides şi Revel (1979) au descris lamellipodium ca o foaie oarecum neregulată de citoplasmă cu o grosime de aproximativ o zecime de micrometru (100 de nanometri). Este decorat de-a lungul marginii de mici proeminenţe asemănătoare degetelor stufoase care se ataşează la suprafaţa vasului şi se pot extinde rapid de mai multe ori lungimea lor iniţială în filopodia asemănătoare tijelor. Acestea sunt structuri foarte dinamice care se pot schimba de la o stare fluidă la una rigidă în mai puţin de o secundă, datorită asamblării bruşte a filamentelor de actină. Crescând de la suprafaţa celulei, acestea oferă ghiduri spaţiale între care membrana celulară şi citoplasma curg pentru a forma volanul. Filopodia fie se ataşează de substrat şi devin rigide, fie se topesc înapoi în celulă. Celula aderă la suprafaţa de sub ea doar în câteva locuri distincte, mai degrabă ca o mână care intră în contact cu o masă doar cu vârfurile degetelor. Contactele permanente ale volanului cu substratul duc la plăci de aderenţă; pe măsură ce celula se mişcă, plăcile sunt formate şi rupte continuu. Pe lângă rolul lor în aderenţa şi motilitatea celulară, volanele şi, în special, filopodia servesc o funcţie senzorială. În embrionul în curs de dezvoltare, atunci când filopodium unei celule nervoase migratoare intră în contact cu suprafaţa alteia, celulele nu se mai mişcă una spre cealaltă. În mod similar, atunci când filopodium unei celule care se răspândeşte în cultura de ţesuturi atinge suprafaţa unei celule care este deja aplatizată, membrana primei celule va curge într-o direcţie opusă punctului de contact. Acest tip de reglare sensibilă a proceselor de creştere este defectuos în celulele canceroase maligne.

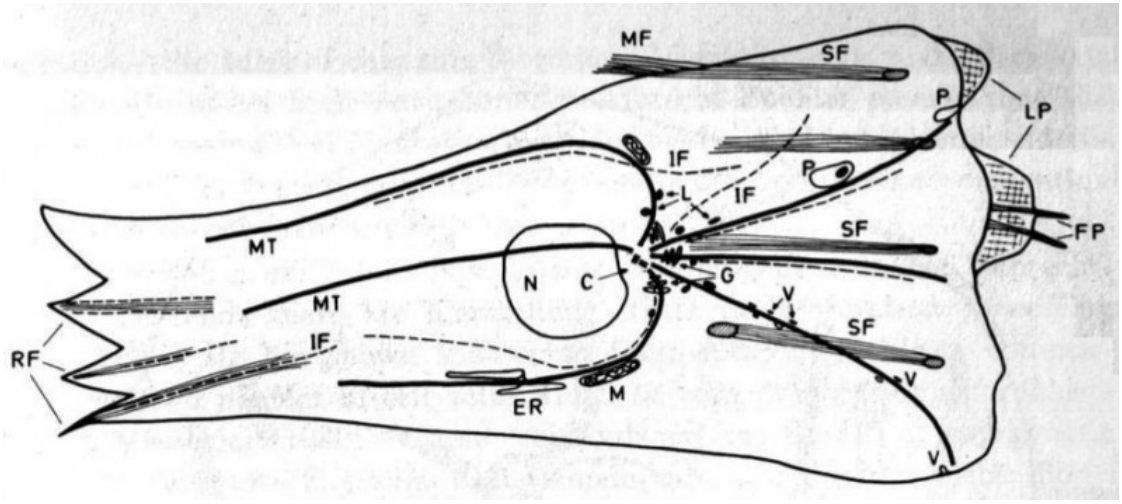


*Fig. 5.23: Organizarea citoplasmatică a unei celule cultivate care se deplasează spre dreapta Microtubulii (MT) radiază din centrozom (C), situat în apropierea nucleului (N), elementelor Golgi (G) şi lizozomilor (L). Mitocondriile (M) şi reticulul endoplasmatic (ER) sunt aliniate de-a lungul MT. Vacuolele fagocitare şi pinocitare (P) şi veziculele secretorii (V) se deplasează de-a lungul MT între centrozom şi periferie. Filamentele intermediare (IF) sunt aproximativ paralele cu MT. Fibrele de stres (SF) sunt ancorele citoplasmatice pentru fibrele matricei extracelulare (MF) care intră în contact cu substratul. La marginea anterioară a celulei în mişcare, lamelipodia şi filopodia, alcătuite din fascicule de actină şi ochiuri, sondează viitorul. La capătul din spate, fibrele de retracţie (RF) conţin fascicule de actină şi filamente intermediare. Cu permisiunea lui Marc DeBrabander (1982) şi Janssen Pharmaceutics Research Laboratories*.

Guenter Albrecht-Buehler (1977, 1980), biolog la Universitatea Northwestern, a studiat citoplasma izolată şi a observat un comportament inteligent. Exemplele includ mişcările organismelor unicelulare care alternează între mişcări de rostogolire şi mişcări netede (Adler, 1969), înotul bacteriilor mobile în medii chemotactice (Macnab şi Koshland, 1972), înotul înapoi al Paramecium după coliziunea cu un obiect şi locomoţia amoeboidă dirijată a celulelor de şoarece 3T3 cultivate. Albrecht-Buehler clasifică trei tipuri majore de mişcare amoeboidă: 1) generarea de forţe (contracţia unui complex actină-miozină, asamblarea-desasamblarea polimerilor de filamente, alunecarea dyneinei-MT, rotaţia filamentelor), 2) transmiterea forţelor motile către structura celulei

(citoscheletul în general, ancorarea elementelor fibroase la suprafața celulei în special) și 3) generarea de tracțiune (plăci de adeziune, matrice extracelulară, membrane bazale).

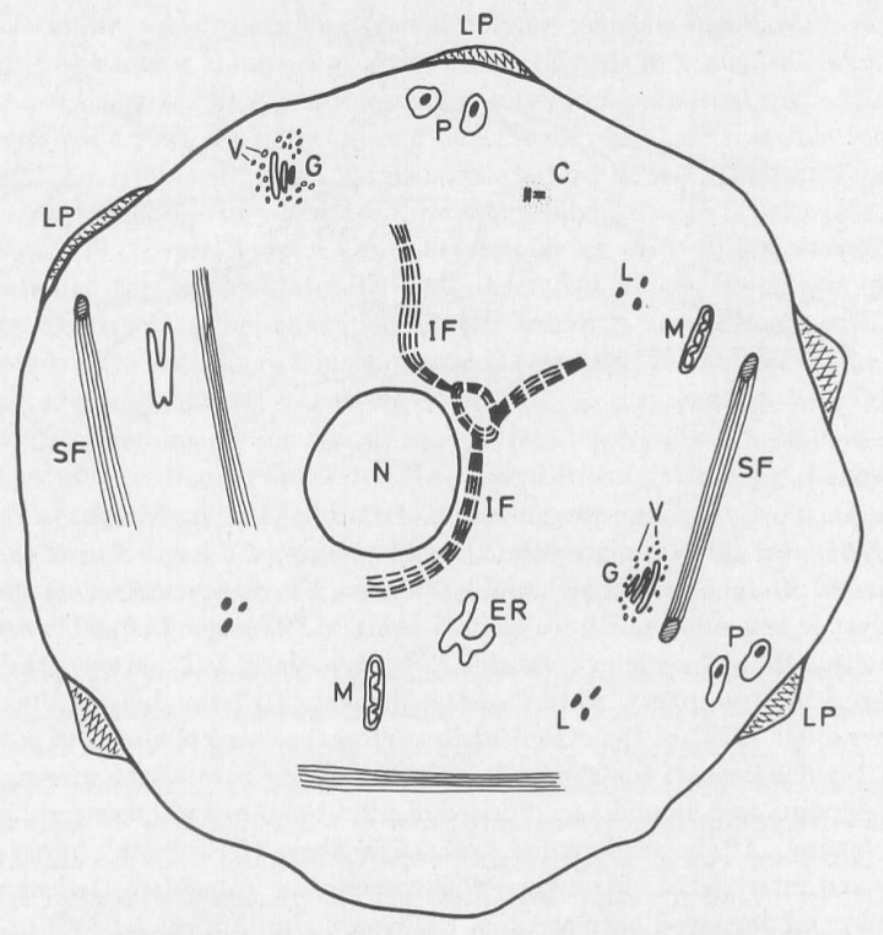


*Fig. 5.24: Celulă tratată cu un medicament inhibitor al asamblării microtubulilor. Celula și-a pierdut polaritatea. Se formează lameliopode în jurul periferiei celulei „blob”ulare. Centriolii (C) sunt separați de nucleu. Elementele Golgi (G), lizozomii (L), mitocondriile (M) și reticulul endoplasmatic (ER) sunt împrăștiate dezordonat în citoplasmă. Cu permisiunea lui Marc DeBrabander (1982) și a Janssen Pharmaceutica Research Laboratories*.

Albrecht-Buehler împarte în continuare controlul migrației celulare în trei subdomenii: 1) generarea unui ax față-spate (polaritatea implică MTOC și MT), 2) coordonarea corpului celular - modul în care cele patruzeci de miliarde de molecule proteice care alcătuiesc fiecare celulă acționează în mod cooperativ pentru a se deplasa ca o unitate și 3) logica migrației - regulile de schimbare a direcției. Celulele migratoare iau decizii și evaluează global mediul lor. Albrecht-Buehler afirmă că controlul migrației celulare amoeboid furnizează dovezi ale inteligenței citoplasmatice, deoarece necesită coordonarea multor domenii celulare și navigare, care implică evaluarea mediului.

Dar celula nu este unitatea indivizibilă a comportamentului inteligent. Albrecht-Buehler susține că există straturi ierarhice de procesare a informațiilor în interiorul celulelor. El a arătat că mici fragmente de citoplasmă, care cuprind aproximativ două procente din volumul celular, pot fi rupte din fibroblastele vii (Albrecht-Buehler, 1980). Aceste „microplaste” sunt lipsite de orice aport genetic, dar pot mișca filopodiile, ondula lamellipodiile și produce *blebs*. Unele fragmente sunt atât de mici încât apar ca filopodii, volane sau *blebs* izolate active și sugerează că celulele conțin domenii citoplasmatice capabile de mișcare amoeboidă autonomă. Albrecht-Buehler afirmă că aceste activități citoplasmatice din interiorul celulelor sunt controlate de un strat superior de organizare pentru a permite locomoția coerentă. Acest nivel de control nu este localizat în gene,

deoarece celulele cu nucleii îndepărtați prezintă încă un comportament de migrație. Există inteligență în citoplasmă. Celula are permis de conducere.

## 5.5.2. Îndoirea brațelor laterale

Mai multe mișcări citoplasmatice importante apar datorită îndoirii proteinelor contractile atașate de-a lungul filamentelor rigide ale citoscheletului. În mușchi, matrice de filamente „subțiri” paralele, interdigitate (actină) interacționează cu filamentele „groase” (miozină). Brațe laterale mici sau punți transversale („capete de miozină”) atașate la filamentele groase de miozină se extind pe o distanță de aproximativ 13 nanometri și „se aliniază ciclic ca niște perechi de vâsle mici” pentru a mișca filamentele unele față de altele. Energia din hidroliza ATP conduce la schimbările conformaționale care determină moleculele de miozină să se onduleze. Utilizarea precisă a energiei de hidroliză ATP pentru a provoca contractilitatea și alte modificări conformaționale rămâne slab înțeleasă, dar va fi discutată în capitolul 6.

Fiecare filament de miozină transportă aproximativ 500 de capete, fiecare dintre ele ciclând de aproximativ 5 ori pe secundă. Există unele dovezi de cooperare în sensul că odată ce un cap de miozină s-a detașat, acesta este transportat de acțiunea altor capete de miozină de-a lungul filamentului gros. Remorcarea capului de miozină este inițiată și coordonată de valuri de ioni de calciu eliberați dintr-un rezervor (reticulul sarcoplasmic) declanșate de activitatea electrică a membranei. Creșterea ionilor de calciu determină o proteină de reglare legată de actină numită troponină să-și schimbe poziția și să permită creșterea actinei-miozină.

Multe activități legate de MT generează forță, locomoție și mișcarea veziculelor și a altor materiale; transportul axoplasmatic este un exemplu bine studiat (Lasek, 1981; Ochs, 1982). MT paralele din interiorul axonilor sunt polarizate, cu „capetele plus” cu creștere rapidă distale de corpul celular, orientate spre sinapsă. Brațe laterale generatoare de forță apar la aproximativ fiecare 16-18 nanometri de-a lungul lungimilor MT. Aceste punți transversale contractile generează mișcarea direcțională a materialului de-a lungul MT, suferind o succesiune de modificări conformaționale care implică atașarea punților transversale la vezicule, generarea de forță dependentă de ATP de către punțile transversale și detașarea punților transversale de vezicule. Detașarea are loc doar la capetele „plus” din apropierea sinapselor. Procesul este similar cu vâslirea capetelor de miozină pentru a glisa filamentele de actină și miozină unul peste altul și pentru a scurta fibrele musculare. Activitățile de dineină bazate pe MT sunt, totuși, mult mai variabile, flexibile și interactive decât evenimentele repetate la scară nanometrică din mușchi. De exemplu, în transportul axoplasmatic dependent de MT, diferite materiale sunt transportate simultan în direcția opusă, de la sinapsă la centrul celulei. Acest transport axoplasmatic „retrograd” se crede că oferă feedback mecanismului de sinteză a proteinelor cu privire la ce enzime sau materiale sunt necesare și/sau pentru a permite „reciclarea” unor molecule (Figura 5.25).

Robert Allen (1985) a fost printre primii care au suspectat că MT și MAPS au servit drept benzi transportoare intracelulare. El și colegii săi au studiat MT și fragmente MT izolate care, cu energie biochimică disponibilă sub formă de ATP, „alunecă” de-a lungul lamelelor de sticlă cu viteze de 150 până la 450 nanometri pe secundă. Viteza este independentă de lungimea fragmentului MT, are loc în esență într-o cale dreaptă și este în direcția transportului axoplasmatic retrograd. Căile drepte ale segmentelor MT care alunecă sugerează că enzimele care generează forță sunt desfășurate în căi liniare, mai degrabă decât elicoidale, de-a lungul MT și că cursa care provoacă alunecarea este paralelă cu MT, cu un interval de spațiere de aproximativ 17 nanometri. Reducerea concentrației disponibile de ATP încetinește semnificativ viteza de alunecare, dar nu afectează numărul sau comportamentul MT-urilor care alunecă. MT care alunecă nu interacționează aproape niciodată atunci când se încrucișează, iar atunci când înaintarea unei MT care alunecă este blocată de un obstacol, aceasta „coboară” încet dintr-o parte în alta printr-o serie de manevre șerpuite. Allen și colegii săi au concluzionat că forțele observate în MT-urile lor libere șerpuitoare, precum și în transportul axoplasmatic și îndoirea ciliară, se datorează „enzimelor generatoare de forță” atașate direct de MT. Dineina, care funcționează pentru a provoca legarea în cili și flageli, este o enzimă generatoare de forță MT, iar kinesina este un alt motor pentru transportul organelelor de-a lungul

microtubulilor. Mărgelele de latex acoperite cu kinesină se translocă de-a lungul microtubulilor similar organelelor, deşi cu o viteză mai mică. Kinesina purificată poate creşte frecvenţa mişcării organelelor axoplasmatice de-a lungul MT-urilor purificate.

Allen şi colegii săi au propus „ipoteza loviturii de spate", care afirmă că enzima generatoare de forţă (dineina sau kinesina) face o cursă eliptică care imprimă o anumită forţă în ambele direcţii. Modelul de lovitură de spate cu dineină al lui Allen este capabil să transporte vezicule în direcţii opuse simultan prin căi suficient de separate, astfel încât acestea rareori se ciocnesc. Mai mult, mişcarea generată poate fi continuă, neîntreruptă de cicluri de ataşare şi detaşare. Ciclul mecanic al fiecărui braţ lateral include o cursă radială care mişcă veziculele în direcţia anterogradă spre capătul plus al microtubulului. Această parte a ciclului face, de asemenea, ca MT-urile izolate să alunece „retrograd". Cursa de întoarcere este tangentă la suprafaţa MT şi transportă organelele mai mari pe o cale retrogradă şi propulsează MT-urile care alunecă spre capătul lor „anterograd" plus.

Mecanismele prin care braţele proteice generatoare de forţă pot folosi energia ATP pentru a se contracta vor fi discutate în capitolul 6. Şi mai puţin înţelesă este semnalizarea şi comunicarea care orchestrează activităţile contractile ale rândurilor de braţe aranjate spaţial pe reţelele MT. Comunicarea colectivă între subunităţile reţelei MT (solitoni, excitaţii coerente, vibraţii de reţea) ar putea explica această orchestrare.

Modelul „backstroke" este favorizat în prezent mai mult decât un alt model: microstreams. Shimizu şi Haken (1983) au propus o cooperativitate dinamică a elementelor citoscheletice care generează microstreams hidrodinamice care transportă materiale celulare. Aceştia s-au axat în special pe interacţiunile actină-miozină pentru a genera aceste microstreams. Tehnici noi, cum ar fi microscopia nanovideo dezvoltată de Marc DeBrabander şi colegii săi (1986) la Laboratoarele de cercetare Janssen Pharmaceutica din Belgia, arată urmărirea directă a particulelor imunomarcate de-a lungul MT, punând la îndoială semnificaţia microstreams. Se observă că particulele se deplasează în direcţii opuse de-a lungul aceluiaşi MT, trecând una pe lângă cealaltă ca două trenuri de cale ferată pe şine adiacente. Microstreaming-ul nu pare dominant în transportul axoplasmatic, dar ar putea fi important în alte fenomene. Locul principal al transportului coordonat şi al orchestrării sale complexe pare să se afle exclusiv în provincia MT.

## 5.5.3. Mișcarea ciliară și colectivă

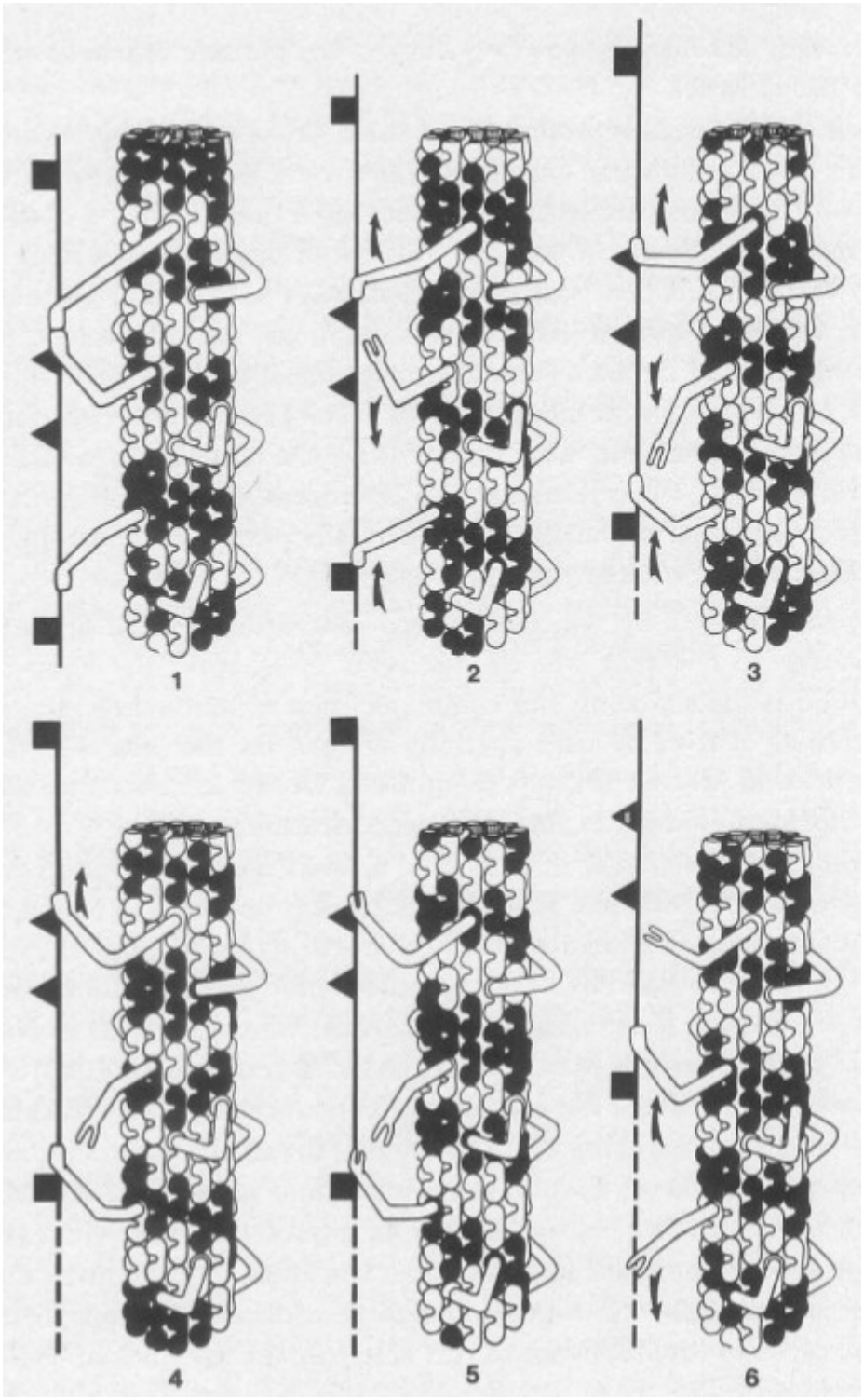


*Fig. 5.25: Transportul axoplasmatic are loc prin activităţi coordonate ale proteinelor contractile laterale („dynein”), care trec materialul în mod cooperativ într-o „brigadă de găleți”. Mecanismul de orchestrare este necunoscut, dar este prezentat aici ca o consecință a semnalizării prin unde „soliton” a stărilor conformaționale ale tubulinei. De Fred Anderson.*

Structura cililor şi flagelilor este formată dintr-un miez de microtubuli paraleli într-un aranjament cilindric "9+2" de microtubuli dubleți sau tripleți. Aranjamentul este similar cu cel al centriolilor, care sunt, de asemenea, cilindri de 9 tripleți MT, dar fără perechea centrală suplimentară. Cilii și flagelii motori au actină înfășurată în jurul perechii lor centrale de MT.

Proteinele braţelor laterale care conectează microtubulii paraleli se numesc legături, raze sau braţe laterale şi sunt alcătuite din dineină, proteina contractilă care utilizează energia ATP pentru a produce forţă. Cilile şi flagelii sunt ancoraţi în interiorul celulei de corpurile bazale, care sunt, de asemenea, compuse din microtubuli paraleli şi formează un cilindru scurt cu acelaşi diametru exterior şi simetrie de nouă ca cilii, flagelii şi centriolii. S-a demonstrat clar că mecanismele ciliare pot funcţiona fără influenţa celulei de care sunt ataşate. Flagelii sau cilii tăiaţi de celule cu raze laser continuă să propage mişcări normale de îndoire, dacă mediul înconjurător conţine ATP şi ioni de magneziu sau calciu. Cilii funcţionează pentru a mişca fluidul peste suprafaţa unei celule sau pentru a propulsa celule individuale printr-un fluid. Organismele unicelulare folosesc cilii pentru colectarea particulelor de alimente şi pentru locomoţie. În plămânii şi tractul respirator uman, mucoasa epitelială conţine aproximativ un miliard de cili pe centimetru pătrat, care acţionează pentru a îndepărta straturile de mucus, particule prinse şi celule moarte spre gură, unde pot fi tuşite sau înghiţite. Cilii se îndoaie în valuri unidirecţionale coordonate, în care fiecare ciliu se mişcă ca un bici mic. Există o lovitură înainte în care ciliul este extins şi exercită o forţă maximă asupra mediului lichid înconjurător, urmată de o fază de recuperare când revine la poziţia iniţială. Mişcarea este o mişcare de rostogolire care minimizează rezistenţa vâscoasă şi necesită aproximativ 0,1 până la 0,2 secunde. Ciclurile cililor adiacenţi nu sunt chiar în sincronizare, iar întârzierea mică produce modele asemănătoare undelor ale întregului complex ciliar. Flagelii simpli ai spermatozoizilor şi ai organismelor unicelulare sunt asemănători cu cilii mari în structura lor internă, dar sunt, de obicei, mai lungi şi se propagă în unde cvasisinusoidale, mai degrabă decât mişcări mai rapide asemănătoare unui bici. Mecanismul de bătaie flagelar la eucariote (dar nu la bacterii) este foarte similar cu cel al cililor.

Contracţia musculară, transportul axoplasmic şi mişcarea cililor şi flagelilor apar prin îndoirea contractilă a proteinelor braţelor laterale ataşate de-a lungul filamentelor citoscheletale. În cazul contracţiei musculare, filamentele citoscheletale stabile sunt miozina, cu apendice numite capete de miozină, care se deplasează de-a lungul filamentelor de actină paralele. În cazul transportului axoplasmic şi al îndoirii ciliare şi flagelare, microtubulii sunt filamentele stabile de la care braţele laterale contractibile de dineină se deplasează sau vâslesc de-a lungul altor MT (în cazul cililor şi flagelilor), sau transmit material sau vezicule (în cazul transportului axoplasmic). Energia pentru toate aceste mecanisme este furnizată prin hidroliza ATP, dar utilizarea sa precisă, transferul stărilor conformaţionale şi orchestrarea temporală necesară pentru a controla aceste apendice ale braţelor laterale sunt necunoscute. Figura 5.25 arată un posibil mecanism de control cooperativ în care o undă de stări conformaţionale ale tubulinei (soliton) călătoreşte de-a lungul reţelei cilindrice a MT pentru a declanşa activităţile dineinei.

## 5.5.4. Geluri geodezice de Tensegritate

Contracţia actină-miozină are loc şi în celulele non-musculare. La scurt timp după ce actina şi miozina au fost identificate în muşchi, Loewy a descoperit că extractele de citoplasmă de mucegai de nămol au răspuns la ATP cu o scădere a vâscozităţii. El a emis ipoteza că ATP furniza energie chimică, care era convertită în lucru mecanic necesar pentru locomoţia mucegaiului de nămol. După ce H. E. Huxley şi colegii săi de la University College London au arătat că contracţia musculară a fost realizată prin alunecarea dependentă de ATP a filamentelor de actină şi miozină unul pe lângă celălalt, Hatano şi Osawa de la Nagoya au purificat actina din mucegaiul de nămol. Investigaţiile ulterioare au descoperit miriade de proteine ale citomatrixului, inclusiv miozina, care erau legate de contractilitate şi reglarea acesteia (Lazarides şi Revel, 1979).

Folosind anticorpi fluorescenţi pentru a „ilumina” proteine specifice, Lazarides şi Revel (1979) au observat filamente de actină organizate în reţele extrem de regulate, care seamănă foarte mult cu domurile geodezice. Aceştia descriu reţele geodezice icosaedrice care cuprind zona de deasupra şi din jurul nucleelor celulare şi a altor regiuni celulare după ce celulele sunt tratate cu anticorpi fluorescenţi care iluminează actina, alfa-actinina şi tropomiozina. Actinina alfa este localizată în principal la vârfurile reţelei geodezice, iar tropomiozina este localizată de-a lungul fibrelor de actină care leagă vârfurile. Fibrele mai lungi se ataşează la vârfurile reţelei şi se extind în

filopode, lamelipode şi membrane. Reţeaua geodezică şi vârfurile acţionează ca centre de organizare implicate în menţinerea structurii celulare (Figura 5.26).

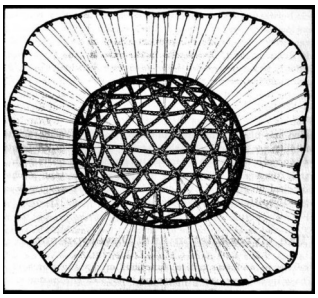

*Fig. 5.26; Gelul geometric al citomatricei de actină care înconjoară nucleul celular, din Lazarides şi Revel (1979). Vârfurile domului nuclear icosaedric ataşează filamente care se extind până la membrana celulară. De Paul Jablonka*.

Unele reţele de actină sunt structuri dinamice tranzitorii care servesc funcţii trecătoare, dar vitale, în timpul ciclului celular. În timpul stadiilor finale ale diviziunii celulare, după ce cromozomii duplicaţi au fost separaţi de fusul mitotic, un inel de constricţie înconjoară ecuatorul celulei mamă, perpendicular pe axa fusului. Lucrul acestui "şanţ de clivaj" constrânge citoplasma până când este împărţită în două celule fiice. Tensiunea de constricţie a fost estimată din observaţii la ouăle de *dolar de nisip* şi de arici de mare, fiind de aproximativ $3 \times 10^5$ dyne pe centimetru pătrat, o valoare comparabilă cu forţa generată în muşchi (Lazarides şi Revel, 1979). Inelul contractil al şanţului de clivaj este o structură temporară care există doar aproximativ 10 minute; acesta se asamblează şi se demontează rapid. Deşi lăţimea şi grosimea inelului contractil rămân constante în timpul constricţiei, volumul scade. Inelul trebuie să se demonteze chiar şi în timp ce se contractă, ceea ce înseamnă că orice interacţiune de alunecare a filamentelor de actină şi miozină trebuie să fie urmată de dezagregarea unor filamente. Această dezmembrare trebuie să aibă loc uniform prin inel, pe durata scurtă a vieţii sale. Prin urmare, un model simplu de filament glisant este insuficient pentru a explica funcţia de clivaj celular a inelului contractil.

Steve Heidemann şi colegii săi (Joshi, Chu, Buxbaum şi Heidemann, 1985) de la Universitatea de Stat din Michigan au examinat proprietăţile de compresie şi tracţiune ale citoplasmei. Ei au constatat că microtubulii semirigizi sunt supuşi forţelor de compresie generate de filamentele contractile de actină împletite. Un echilibru între forţele de compresie şi tracţiune paralele duce la o proprietate de auto-susţinere caracterizată de Buckminster Fuller (1975) ca "*tensegrity*". *Tensegritatea* poate oferi suport celular chiar dacă elementele paralele rigide nu sunt în contact direct. *Tensegritatea* în citoschelet ar putea explica proprietăţile structurale de auto-susţinere ale citoplasmei în care elementele paralele rigide nu sunt în contact direct.

Robert Jarosch (1986) a propus că actina contractilă înfăşoară şi desfăşoară microtubulii printr-o "acţionare prin cuplu", provocând oscilaţii de rotaţie şi, poate, acordarea şi dezacordarea sistemului microtubulilor. Compresia/tensiunea dinamică pot fi, de asemenea, importante în reglarea receptorilor de membrană a căror mobilitate este limitată de ancorarea MT. Invers, filamentele contractile de actină pot redistribui receptorii, cu excepţia cazului în care sunt restricţionate.

Tensegritatea dinamică (Capitolul 8) poate fi un mecanism important în multe funcţii biologice. În citoplasmă, structuri complexe se asamblează, funcţionează şi dispar în subunităţi solubile.

## 5.6. Citoscheletul şi dezvoltarea

Citoscheletul îndeplineşte funcţii critice în reproducere şi dezvoltare. Acestea includ meioza (diviziunea cromozomilor duplicaţi în celulele spermatozoizilor şi ale ovulelor), motilitatea spermatozoizilor, mitoza, proliferarea celulară, migraţia celulară şi schimbările în forma celulelor care însoţesc diferenţierea, exprimarea formei şi funcţiei celulare. Toate celulele dintr-un organism

dat au aceleași capacități genetice, dar își asumă rolurile unor țesuturi specifice prin misterioasele procese de trofism și diferențiere. Celulele din organismele sau embrionii în curs de dezvoltare pot fi mutate și vor crește și vor prelua caracteristicile noului țesut în care sunt plasate.

Citoscheletul este crucial pentru toți pașii din reproducere, creștere, trofism și diferențiere. Dacă cromozomii sunt distribuiți defectuos în meioză sau mitoză, pot apărea urmași neviabili sau anormali. O astfel de distribuție defectuoasă poate fi legată de disfuncția citoscheletală, o teorie timpurie pentru cauza cancerului (Boveri, 1929). Variabilitatea în izoenzimele de tubulină și MAP-uri ar putea explica specificitatea țesuturilor și a celulelor bazată pe diferențele în compoziția moleculară și activitățile citoscheletului.

Originile formei, modelele de creștere și diferențiere constituie știința biologică a embriologiei, abordată pentru prima dată de grecul Aristotel. Două explicații posibile pentru dezvoltarea formei și a modelelor din ceea ce părea a fi nimic au fost luate în considerare de Aristotel. Prima noțiune a fost că embrionii derivă din mase fără formă, mici, printr-un proces de dezvăluire continuă pe care el l-a numit "epigeneză". A doua noțiune a fost că modele individuale există în miniatură în cadrul părinților, iar dezvoltarea constă în creșterea constantă a dimensiunilor sale, procesul de "preformare". Aristotel (Cartea VI din *Historia Animilium*) a descris experimentele sale în care a întrerupt incubația unui ou de găină în diferite stadii. După trei zile,

> *inima apare ca o pată de sânge în albușul de ou, ... [ea] bate și se mișcă ca și cum ar fi înzestrată cu viață, iar din ea pornesc două canale venoase cu sânge într-un curs întortocheat*.

Doar șapte zile mai târziu, „puiul și toate părțile sale sunt distinct vizibile". Aristotel a favorizat epigeneza, cu toate acestea conceptul de preformație a dominat știința timp de secole, până în 1759, când Friedrich Wolff, un medic german care locuia la St. Petersburg, a publicat „*Theoria Generationis*". Cu o optică mai bună decât Aristotel, Wolff a observat că puiul a început cu „globule" sau celule care păreau să nu aibă nicio relație funcțională între ele. Cu timpul, au apărut grupuri distincte de celule pentru a forma structurile care devin organele principale ale găinii. Alte dovezi împotriva teoriei preformației au venit în 1900, când Hans Adolf Driesch a demonstrat că un embrion de arici de mare, atunci când este tăiat în jumătate, se dezvoltă în doi embrioni completi (Burnside, 1974).

Teoria de diferențiere a lui Aristotel, epigeneză, afirmă că sfere omogene încep să se dividă, dând naștere la mai multe sfere care se divid și ele. „Celulele" încep să prezinte diferențe de structură și funcție și o „coerență colectivă". Fiecare celulă știe unde să meargă, când să meargă acolo, cu ce celule să se adune și cum să lucreze cooperativ. Excluzând posibilitatea ca o inteligență transcendentală să supravegheze personal dezvoltarea fiecărui organism, concluzia este că celula originală conține suficiente informații pentru a orchestra întregul proces. Aristotel ar fi probabil și mai uimit să descopere că în timpul dezvoltării embriologice timpurii, fiecare celulă este totipotențială: poate prelua rolul oricărui țesut din organism. Acum știm că ADN-ul cromozomial din fiecare celulă conține toate informațiile genetice. Începem să înțelegem cum sunt activate și dezactivate genele specifice. Celulele par să preia rolul mediului lor datorită influenței morfologice „trofice" transmise prin transportul axoplasmatic citoscheletic în cadrul celulelor nervoase „inervatoare".

O mare parte din misterul formei biologice și al diferențierii se concentrează, așadar, pe creșterea, găsirea traseului și capacitățile trofice ale neuronilor embriologici. Forma, arhitectura și conexiunile pe care le fac procesele nervoase nu numai că stabilesc forma țesuturilor și a corpului, ci și conexiunile sinaptice și „hardware-ul" creierului.

Cum procesele neuronale știu unde și când să își trimită procesele și să stabilească conexiuni? Misterul a fost comparat cu fabula "șiretlicului cu funia indiană" în care un "fakir" aruncă o funie în aer, unde aceasta rămâne misterios rigidă. Apoi, el se urcă pe funie, trage de porțiunea inferioară în sus și dispare! Șiretlicul embriologic indian depinde de forma și orientarea neuronală: numărul de axoni și dendrite tinere ("neurite") care apar din corpul celular, direcția lor,

gradul de ramificare, cât de mult cresc şi unde şi cum formează sinapse. Toţi aceşti factori sunt manifestaţi de citoschelet. Centriolul/MTOC stabileşte polaritatea şi orientarea celulei şi, probabil, "lansează" procesele de extensie. Vârfurile neuritelor care se alungesc sunt zone specializate de citoplasmă numite "conuri de creştere", care nu numai că cresc spre exterior, ci participă şi la decizii privind direcţia, ramificarea şi terminarea extensiei. Conurile de creştere pot detecta schimbări în mediul local şi, acţionând în concert cu alte elemente citoscheletale din interiorul neuritei, îşi schimbă direcţia, se ramifică sau formează sinapse. Activităţile conurilor de creştere sunt remarcabil de similare cu mişcarea în amibe şi alte organisme simple. Ele îşi sondează în mod continuu împrejurimile prin trimiterea şi apoi retragerea unor pliuri delicate cunoscute sub numele de *lamellipodia* şi proiecţii asemănătoare degetelor numite filopodia sau microspini. Aceste micro-apendice dinamice sunt alcătuite din reţele şi matrice paralele de filamente de actină. MT şi neurofilamentele din neurite se extind în conurile de creştere, dar, în general, se opresc înainte de zonele bogate în actină (Bunge, 1986).

Rolurile MT şi actină în extensia axonală au fost studiate de Yamada, Spooner şi Wessells (1970). Adăugarea de cytochalasina B, care este cunoscută pentru a modifica filamentele de actină, blochează creşterea neuritelor dacă este adăugată înainte de începerea extensiei. Tratamentul axonilor în extindere cu cytochalasina B are ca rezultat încetarea activităţii de „falduri” a conului de creştere, cu un efect imediat mic asupra tijei neuritelor. În contrast, agenţii antimicrotubulari, cum ar fi colchicina, lasă activitatea conului de creştere neafectată, dar blochează extensia neuritelor. Expunerea continuă duce la retragerea procesului celular, cu formarea ulterioară a unuia sau mai multor conuri de creştere din corpul celular. Aceste observaţii, împreună cu evaluările ultrastructurale ale celulelor tratate, arată că MT sunt necesare pentru creşterea neuritelor, în timp ce filamentele de actină sunt esenţiale pentru protruzia conului de creştere, un fenomen similar cu mişcarea ameboidă. O interacţiune complexă a activităţilor dinamice ale actinei şi MT este necesară pentru înmugurirea neuritelor şi extensia conului de creştere. O viziune compozită a activităţilor conului de creştere este că, sub direcţia citoscheletului MT, asamblarea actinei generează lamellipodii şi filopodia proeminente. La contactul cu un substrat extern adecvat, filopodiile aderă şi fasciculele de actină se formează de la vârful filopodiilor în conul de creştere. Miozina se colocalizează cu actina şi interacţiunea actină-miozină produce o tensiune „similară muşchilor”, care asigură o ancorare pentru conul de creştere la locul de aderare al filopodiilor. Lamellipodiile, faldurile de tip foaie, se năpustesc printre filopodiile asemănătoare degetelor, în special în apropierea punctelor unde sunt necesare decizii cu privire la ramificare.

Activităţile conului de creştere legate de diferenţierea embriologică se află la baza inteligenţei. Dovezile sugerează că expresia tubulinei, MAPS şi a altor elemente cito scheletice sunt, de asemenea, importante pentru determinarea formei şi funcţiei celulare. Barra şi colegii (1974) au arătat modificări ale alfa şi beta tubulinei în timpul dezvoltării creierului. Cantitatea relativă de alfa şi beta tubulină din creierul şobolanului atinge un vârf în jurul celei de-a 14-a zi după naştere şi apoi scade la nivelurile adulte ca urmare a reducerii ratei de sinteză. Modelul variantelor genetice de alfa şi beta tubulină (izozime) suferă modificări marcante în timpul dezvoltării creierului, cu o creştere a varietăţii de tubulină. De exemplu, 3-4 tipuri diferite de beta tubulină sunt observate în creierul embrionar de şoarece, comparativ cu 13 tipuri la şoarecii adulţi. Modificarea izotipurilor de alfa tubulină începe în creierul embrionar, în timp ce modificarea beta tubulinei începe să apară după naştere şi coincide cu o perioadă de creştere extinsă a proceselor şi sinaptogeneză în creierul în curs de dezvoltare.

MAP-urile sunt, de asemenea, implicate în dezvoltare şi exprimare (Barra et al., 1974). În cazul creierului de şobolan, două polipeptide **tau** sunt prezente în primele zile de la naştere. Până la 35 de zile, modelul adult a apărut, în care sunt aparente patru polipeptide **tau** majore. Proteinele **tau** ale maturităţii sunt mai pricepute la promovarea asamblării MT decât proteinele **tau** ale imaturităţii. MAP 1 poate fi rezolvat în trei grupuri de MAP 1A, 1B şi 1C. În dezvoltarea creierului de pui, MAP IA este prezentă iniţial la niveluri scăzute şi creşte în timpul dezvoltării embrionare târzii şi după eclozare. În mod similar, MT-urile din creierul de şobolan de 10 zile sunt epuizate de MAP 1A în comparaţie cu creierele adulte. MAP 2 este restricţionat la dendrite şi corpuri celulare în creierul

adult și este concentrat în special în vârfurile dendritice, dendritele celulelor Purkinje și toate corpurile celulare neuronale, dar absent din axoni. Localizarea MAP 2 la citoscheletul dendritic începe la cele mai timpurii momente ale apariției excrescențelor dendritice. În creierul adult, MAP 2A și MAP 2B apar în momente și regiuni cerebrale diferite și sunt localizate în axoni bogați în neurofilamente.

Toate aceste schimbări se datorează mecanismelor citoscheletice localizate, pe lângă expresia genetică. Simfonia modificărilor în izozimele de tubulină și MAP are partitura scrisă în ADN, dar interpretarea sa necesită interacțiuni colective de cooperare între dirijor și orchestră. De exemplu, „tirozinarea" beta tubulinei are loc datorită semnalizării și condițiilor prezente în citoplasmă. Modificările sunt implicate în controlul dezvoltării proceselor axonale și dendritice, transportul constituentelor la vârfurile proceselor în creștere, migrația și diviziunea celulară și stabilirea și menținerea sinapselor și a formei adulte a neuronului. Relațiile temporale dintre modificările proteinelor neuronale MT și diferențiere sunt esențiale pentru produsul final: creierul/mintea.

## 5.7. Citoscheletul și Medicina

Defectele legate de microtubuli sunt legate în mod specific de mai multe boli umane. Un exemplu este "sindromul cililor imobili" (Afzelius, 1979), care este cauzat de alterarea dineinei și duce la incapacitatea de a expulza secrețiile din plămâni, ducând la infecții bacteriene recurente. Un altul este dizabilitatea de dezvoltare la sugari, care este cauzată de funcția MT anormală indusă de MAP defecte (Purpura, 1982). Citoscheletul participă la efectele diferitelor boli (malignitate, boala Alzheimer, infecții virale), medicamente, toxine și răspunsul organismului la boală.

Drumul spre înțelegerea MT a trecut prin boala gută, o umflare dureroasă a articulațiilor cauzată de răspunsul organismului la acumularea de cristale de urat. Limfocitele și macrofagele, celulele imune ale organismului, părăsesc fluxul sanguin și migrează prin locomoție ameboidă către cristalele de urat, care se localizează adesea într-o articulație a degetului mare de la picior. Guta poate fi precipitată de alimentele care conțin purine, care sunt metabolizate în urat. Cristalele de urat nu sunt deosebit de dăunătoare, cu excepția răspunsului imun inflamator dureros pe care îl declanșează. Din noroc, s-a descoperit că un medicament numit colchicină este util pentru ameliorarea durerii și sensibilității. Mai târziu, s-a descoperit că colchicina funcționează prin depolimerizarea microtubulilor și prevenirea locomoției și a comportamentului de înglobare al limfocitelor și macrofagelor.

Pe lângă migrarea celulară, citoscheletul este clar implicat în stabilirea arhitecturii celulare normale, a funcției și a controlului diviziunii și creșterii celulare. În malignitate, controlul reproducerii celulare este pierdut și creșterea continuă fără a ține cont de nevoile organismului. Celulele canceroase prezintă o tendință de a se desprinde de ancorare și de a-și stabili creșterea în altă parte a corpului. Citoscheletul malign este dezorganizat, cu formarea de agregate oscilante de material contractil care ajută la detașarea celulei de la ancorare, instabilitate în numărul cromozomilor și pierderea reglării creșterii. Toate aceste efecte ar putea fi în principal de origine citoscheletală, iar Puck (1977) a propus că malignitatea este o boală a citoscheletului. Este clar că citoscheletul este implicat în exprimarea și procesele celulelor maligne. În cancer, diviziunea celulară scapă de sub control: fusurile mitotice multipolare sau asimetrice sunt observate frecvent. Boveri a observat în 1929 că o astfel de distribuție aberantă a materialului genetic ar putea duce la orice combinație sau permutare de gene, dintre care majoritatea ar fi neviabile. Cu toate acestea, unele permutări pot fi suficient de viabile și pot avea trăsături abjecte de malignitate. Mulți alți factori care duc la modificări genetice pot explica aceleași rezultate, astfel încât etiologia precisă nu poate fi identificată. Într-adevăr, cancerul este probabil cauzat de un număr de etiologii, inclusiv virusuri care infiltrează și uzurpă aparatul genetic și citoscheletul.

O mare parte din cunoștințele noastre actuale despre citoschelet au fost învățate din perturbații experimentale prin toxine, otrăvuri sau medicamente. Claude Bernard a spus în 1875:

Otrava devine un instrument care disociază şi analizează proprietăţile speciale ale diferitelor celule vii; prin stabilirea mecanismelor lor şi prin provocarea morţii celulare sau a modificărilor funcţiei celulare, putem învăţa indirect multe despre relaţia dintre structura moleculară şi procesul fiziologic al vieţii.

Nervii periferici şi transportul axoplasmic sunt vulnerabili la efectele toxinelor şi medicamentelor. Alcaloizii de vinca (vincristină, vinblastină) sunt utilizaţi în mod obişnuit în lupta împotriva cancerului, deoarece perturbă fusurile mitotice MT pe măsură ce polimerizează. Deoarece celulele canceroase se divid mult mai rapid decât celulele normale, otrăvurile fusului mitotic sunt eficiente împotriva malignităţii. Cu toate acestea, pot provoca efecte secundare, inclusiv leziuni ale nervilor periferici, prin afectarea transportului axoplasmic dependent de MT. Aceasta are ca rezultat leziuni ale nervilor periferici la mulţi pacienţi care primesc medicamente anti-microtubule. Uneori, disfuncţia neurologică severă limitează utilizarea medicamentelor vinca. Din fericire, nici alcaloizii de vinca, nici colchicina nu traversează bariera hemato-encefalică, astfel încât problemele sistemului nervos central sunt limitate.

Nu se cunosc agenţi care să perturbe selectiv filamentele intermediare (deşi 2,5 hexan dionă poate acţiona în acest sens). În celulele intacte, vanadatul combinat cu medicamente care demontează microtubulele determină colapsul filamentelor intermediare de tip vimentină în jurul nucleului. O toxină cunoscută sub numele de beta, beta prim iminodiproprionitril (IDPN) perturbă organizarea microtubule/neurofilamente în axoni, ceea ce duce la colocalizarea anumitor subgrupe MAP II cu filamente intermediare. Wisniewski şi colegii (1966) au arătat că injectarea sărurilor de aluminiu în creier sau în lichidul cefalorahidian al animalelor de experienţă a indus o acumulare marcată de filamente de 10 nanometri în corpurile celulare, dendrite şi segmentele axonale iniţiale ale neuronilor mari. Când sunt colorate cu argint, aceste acumulări seamănă superficial cu ghemurile neurofibrilare care sunt întâlnite într-un număr de stări de boală umană, în special boala Alzheimer, demenţa parkinsoniană şi senilitatea. Acumulările filamentoase nu sunt identice cu cele ale bolilor umane, dar ridică întrebări interesante despre rolul proteinelor cito scheletice în aceste afecţiuni. Boala Alzheimer şi formele asociate de demenţă senilă sunt caracterizate de aceste ghemuri neurofibrilare care au ca rezultat diverse simptome, inclusiv o lipsă de acetilcolină la sinapsele neuronilor "colinergici". Această lipsă poate fi datorată unei defalcări a mecanismelor de transport cito scheletice care livrează precursori de acetilcolină la sinapse. Disfuncţia cognitivă care caracterizează demenţele este legată cumva de perturbarea cito scheletului. Alte toxine ale căror mecanisme au fost atribuite efectelor cito scheletice includ hexacarburile, disulfura de carbon, acrilamida, metilmercurul şi azbestul.

Când celulele sunt lezate de lipsa de oxigen, acidoză, toxine sau alte cauze, există un punct ireversibil dincolo de care moartea celulară este inevitabilă. Dovezi recente indică o creştere patologică a ionului de calciu citoplasmic ca fiind punctul ireversibil (Farber, 1981). Excesul de calciu poate proveni din afara celulei, difuzând prin membranele deteriorate, sau poate fi eliberat din rezervoarele citoplasmatice, inclusiv citoscheletul. Indiferent de sursa sa, calciul ridicat provoacă depolimerizarea microtubulilor şi a altor componente citoscheletice. Rezultatul net este o pierdere a organizării citoplasmatice, a funcţiei enzimatice şi a integrităţii structurale, ducând la moartea celulară. Dimetilsulfoxidul (DMSO) este un solvent care stabilizează microtubulii polimerizaţi şi care s-a demonstrat că păstrează integritatea celulelor şi a ţesuturilor împotriva efectelor dăunătoare ale radiaţiilor, temperaturii scăzute şi altor insulte. Alte compuşi (taxol, polilizină etc.) fortifică sau conservă, de asemenea, MT şi citoscheletul şi ar putea fi importanţi în terapiile viitoare.

Efectele unui număr de alte medicamente pot fi mediate prin citoschelet; printre acestea se numără anestezicele care provoacă o încetare reversibilă a conştiinţei. În secolul al XIX-lea, Claude Bernard a observat că un anestezic (cloroform) inhiba „curentul protoplasmatic” în mucegaiurile de nămol, o funcţie a citoscheletului. Allison şi Nunn (1968) au arătat că concentraţii suficiente de anestezic general halotan depolimerizează reversibil MT. Barbituricele care induc somnul, anestezicele locale şi tranchilizantele majore, cum ar fi thorazina, se leagă, de asemenea, de MT-

urile cerebrale. Capitolul 7 va descrie modul în care anestezia este legată de inhibarea activităţilor cooperative legate de procesarea informaţiilor în citoschelet şi proteinele membranare conectate. Emergenţa viitoare a nanotehnologiei (Capitolul 10) poate permite ca intervenţia medicală să fie mai specifică pentru funcţiile şi disfuncţiile citoscheletului.

## 5.8. Inteligenţa în Citoschelet

Reţelele de gel citoscheletice au repertorii complexe. Evenimentele motile din celulele musculare non-repetitive sunt dinamice, adesea tranzitorii şi variabile şi nu sunt strict analoge cu contracţia musculară. Celulele conţin de la două până la cinci tipuri diferite de actină şi acestea se pot combina în până la zece moduri diferite, în funcţie de prezenţa proteinelor de legare şi a altor factori. Anumite actine polimerizează în prezenţa ionilor de calciu sau magneziu, în timp ce alte actine polimerizează numai în absenţa acestora. Celulele non-musculare posedă mecanisme de control care comută dinamic între actina monomerică, actina sub formă de fascicul filamentos şi actina sub formă de reţea de gel geodesică. O parte din motilitatea citoplasmică este rezultatul mişcării actinei miozinice, în timp ce exemplele depind de polimerizarea explozivă a actinei, de dezagregarea rapidă a filamentelor de actină sau de interconversia fasciculelor de filamente într-o reţea (Satir, 1984). Microtubulii, filamentele şi centriolii sunt, de asemenea, implicaţi în aceste aspecte ale mişcării celulare şi sunt deosebit de importanţi pentru orientare şi ghidare direcţională.

Cum pot fi coordonate aceste moduri diverse? Guenter Albrecht-Buehler (1985) citează două cerinţe de bază pentru inteligenţa citoplasmică. Acestea sunt compartimentarea, care separă componentele implicate în diverse funcţii pentru a preveni haosul, şi conţinutul de informaţii. Potrivit lui Shannon (1948), informaţia nu este preocupată de sensul mesajului, ci doar de structura sa formală. După cum a spus Marshal MacLuhan: "mediul este mesajul"; citoplasma este ambele!

Informaţia poate avea conţinut spaţial şi temporal: din punct de vedere spaţial, un mesaj poate fi sub forma unei scrisori sau a unei benzi magnetice şi/sau poate avea o structură temporală, cum ar fi un semnal radio sau un film. Tocmai cuplarea componentelor spaţiale şi temporale într-un sens dinamic este cea care furnizează mediul de informaţie. Shannon a sugerat ca semnalele intenţionate să fie "imprevizibile". De exemplu, un text semnificativ este o secvenţă de cuvinte şi litere pe care cititorul nu le poate anticipa. În contrast, un text format dintr-un şir neîntrerupt de o singură literă nu poartă prea multă informaţie. În mod similar, în mesajele temporale, cum ar fi semnalele radio, unda purtătoare strict periodică şi, prin urmare, predictibilă, a unui emiţător nu poartă informaţii. Numai după ce oscilaţiile periodice ale undei purtătoare au fost modulate cu schimbări imprevizibile de frecvenţă (FM) sau amplitudine (AM) pot fi auzite vorbirea sau muzica. La capătul opus al spectrului, zgomotul stochastic aleatoriu este, de asemenea, lipsit de informaţie.

Albrecht-Buehler observă că citoplasma nu este nici total regulată, ca un cristal periodic, nici total aleatorie, ca un lichid care fierbe, ci este o bucată organizată de materie. Activităţile complexe, complicate, apar "în mijlocul zgomotului termic sufocant de pretutindeni şi dinăuntru." Citoplasma nu numai că îşi păstrează calmul în faţa fondului termic, ci cuplează în mod obişnuit componentele spaţiale şi temporale pentru a manifesta informaţia. Un exemplu de informaţie citoplasmică, care este independentă de controlul ADN/genetic, este modelul de orientare ciliară la Paramecium (Figura 5.27). Modelele extrinsec alterate, "non-genetice" sunt menţinute prin o sută de generaţii mitotice (Aufderheide, Frankel şi Williams, 1977).

Albrecht-Buehler descrie trei aproximări posibile şi progresiv iluminate pentru a explica acţiunile inteligente ale citoplasmei. 1) "Secretul complexităţii citoplasmatice este căutat în însăşi aleatoriul haosului termic combinat cu specificitatea observată a reacţiilor biochimice." Această viziune este îndoielnică, deoarece citoscheletul şi alte structuri iau forme elaborate, non-aleatorii. 2) Inteligenţa citoplasmică provine din "topologia supramoleculară, arhitectura şi dinamica, mai degrabă decât din inhibitori şi promotori care se mişcă liber, cu constantele lor de legare concurente." Aranjamentele spaţiale complexe ale subunităţilor proteice şi ale altor molecule în ansamblurile macromoleculare sugerează puternic cooperare între evenimentele biochimice pe distanţe intracelulare mari. Acest lucru duce la considerarea citoplasmei ca un "complex multienzimatic gigant" bazat pe acţiunile cooperative ale actinei, IF şi MT. Aceasta implică o

funcţie automată, asemănătoare unui robot, a citoplasmei, probabil pusă în mişcare şi direcţionată de aparatul genetic. Această viziune este îmbrăţişată de mulţi biologi care deifică ADN-ul ca motor principal în toate activităţile biologice şi neglijează activităţile citoplasmatice "în timp real" ale organismelor. 3) Albrecht-Buehler sugerează o inteligenţă inerentă în citoplasmă. Inteligenţa implică capacitatea de a colecta şi procesa date şi de a lua decizii pe baza acestor date. De asemenea, importante sunt criteriile intrinseci care fac distincţia între rezultate dezirabile şi nedorite. Inteligenţa implică capacitatea de a evalua situaţii globale, nu doar de a reacţiona la stimuli locali ori de câte ori şi oriunde apar, şi implică comunicarea datelor cu alte obiecte inteligente şi ajustarea adecvată a acţiunilor. Albrecht-Buehler suspectează că computerele au fost descoperite, mai degrabă decât inventate, şi că citoplasma este un "sistem de procesare a datelor bazat pe chimie, gel sau chiar lichid".

Inteligenţa citoplasmică poate depinde de dinamica colectivă a subunităţilor citoscheletice. Aranjamentele paralele ale MT şi neurofilamente oferă un cadru în jurul căruia se pot forma structuri de tip reţea microtrabeculară cu durate de existenţă variabile, ca elemente corelate cu învăţarea, informaţia, memoria şi conştiinţa. Contractilitatea mecanică a actinei-miozinei şi a altor proteine din citomusculară/citomatrice ar putea imprima vibraţii mecanice şi rezonanţe cooperative, solitoni sau modele de unde de interferenţă. Reţelele de tensegritate geodezice ale MT, actinei şi apei lor ordonate se pot pulsa la scară nanometrică în acest moment în toate celulele vii. Modelele de polimerizare ale actinei şi ale altor proteine pot fi, de asemenea, reglementate de diferenţele de fază ale stării sol-gel induse de calciu sau de cuplarea armonică cu alte structuri microtrabeculare şi citoscheletice. Excitările coerente de nanosecunde şi solitoni propagatori sunt mecanisme suplimentare care au fost propuse să apară în cadrul citoscheletului. În creier, consolidarea de la niveluri superioare de procesare paralelă (nivel neuronal, reţea neurală, creier) ar putea fortifica substructuri specifice, cum ar fi modelele de unde ale stărilor sol-gel cuplate cu calciu în citoplasma neuronală.

"Codul genetic" a fost decriptat de Marshal Nirenberg şi colegii săi (1961, 1964), care au putut egala modelele de perechi de baze ADN cu secvenţe specifice de aminoacizi în proteinele sintetizate. Codurile de informaţii "în timp real" din citoschelet pot fi înţelese atunci când evenimentele la scară nanometrică ale citoscheletului, puţin dincolo de capacităţile noastre actuale, vor deveni abordabile odată cu apariţia nanotehnologiei în următoarele decenii.

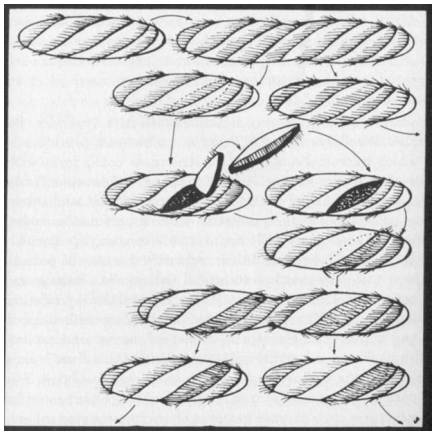

*Fig. 5.27: Mitoza Paramecium şi „ereditatea” citoscheletală. Sus: un singur Paramecium se alungeşte şi se împarte în două celule fiice. Suprafaţa Parameciumului este acoperită cu cili asemănători părului, fiecare dintre aceştia fiind un ansamblu colectiv de microtubule dublete sau triplete. Cilia se îndoaie în mod cooperativ pentru a propulsa Paramecium şi pentru a propulsa mediul lichid pe lângă organisme. Toate ciliile sunt orientate în aceeaşi direcţie, spre stânga. Al doilea rând: Sunt ilustrate experimentele realizate de Aufderheide, Frankel şi Williams (1977). Un segment de membrană celulară şi citoscheletul subiacent care ancorează cilia este transplantat cu orientare inversă într-un Paramecium soră. Orientarea anormală a ciliilor persistă în generaţia următoare şi în următoarele 100 de generaţii! De Paul Jablonka.*

# 6. Dinamica conformațională a proteinelor

Proteinele sunt elementele structurale şi organizatorice ale "stării vii". Funcţiile lor esenţiale sunt intrinsec legate de structura lor şi de comutarea dinamică între diferite stări conformaţionale. De exemplu, proteinele canal ionic încorporate într-o membrană pot fi fie într-o conformaţie "deschisă", prin care anumiţi ioni difuzează de-a lungul unui gradient, fie "închisă". Acest tip de comutare conformaţională nu necesită energie biochimică, cum ar fi hidroliza ATP, ci utilizează energia stocată în gradienţii de tensiune transmembranară şi apare ca răspuns la un declanşator adecvat. Proteine precum enzimele, receptorii, filamentele citoscheletice, miozina musculară şi hemoglobina suferă modificări conformaţionale importante ca răspuns la o varietate de stimuli. Modelele dinamice ale stărilor conformaţionale între subunităţile citoscheletale pot reprezenta informaţii, pot exercita un control asupra funcţiilor biologice de rutină şi pot furniza "granulaţia engramelor".

## 6.1 Structura proteinelor

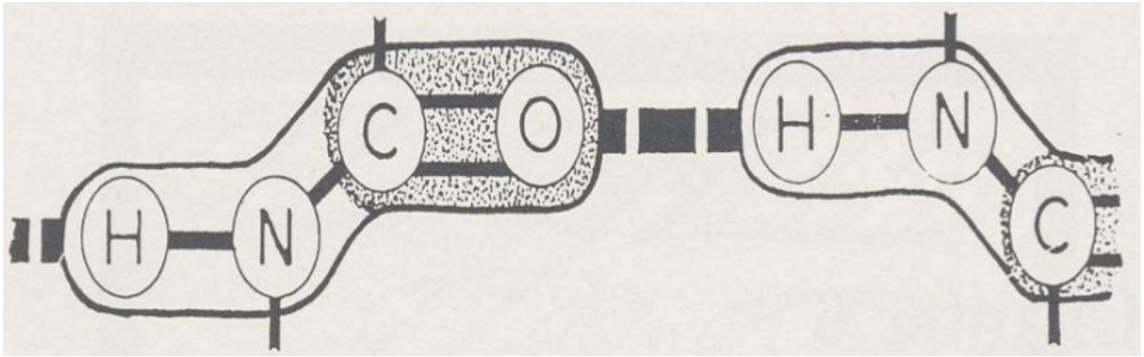


*Fig. 6.1: Legătura de hidrogen dintre hidrogen şi oxigen în legătura de rezonanţă a amidei unu. Cu permisiunea lui Bolterauer, Henkel şi Opper (1986).*

Proteinele au mai multe niveluri ierarhice de organizare structurală care le determină capacităţile dinamice şi funcţionale. Structura primară a proteinei este determinată de o secvenţă de 22 de aminoacizi posibili, uniţi prin legături peptidice. Un aminoacid este alcătuit din atomi de carbon legaţi de atomi de azot (legătură peptidică) şi grupurile lor laterale aferente. Cei 22 de aminoacizi găsiţi în proteine diferă prin grupurile lor laterale, deşi fiecare conţine o legătură dublă carbon-oxigen, cunoscută sub numele de „amidă 1”. Şiruri de aminoacizi numite „peptide” îndeplinesc multe funcţii fiziologice, inclusiv acţionând ca neurotransmiţători şi hormoni circulanţi. Aminoacizii conferă proprietăţi specifice în funcţie de secvenţa încorporării lor în şirul peptidic. Aminoacizii diferă ca dimensiune în funcţie de grupurile lor laterale; greutăţile lor moleculare pot varia de la 75 de daltoni (un dalton este masa unui atom de hidrogen, o doisprezecime dintr-un atom de carbon) pentru glicină, la aproximativ 200 de daltoni pentru triptofan, care conţine un inel aromatic dublu. Proteinele funcţionale variază, de asemenea, ca dimensiune: 55 de kilodaltoni (un kilodalton = o mie de daltoni) pentru monomerii de tubulină la 630 de kilodaltoni pentru tiroglobulină, până la câteva milioane de kilodaltoni pentru ansamblurile proteice care cuprind viruşi mari şi agenţi infecţioşi ai anumitor boli precum psitacoza şi limfogranulomatoza venerea (Harper, 1969). Astfel, proteinele sunt alcătuite din sute până la milioane de aminoacizi. Secvenţa precisă a aminoacizilor este determinată de ADN şi sunt asamblaţi pe ribozomi. O „coloană vertebrală” polipeptidică de 200 de aminoacizi ar avea $22^{200}$ de structuri primare diferite posibile. Masa necesară pentru a include un exemplu din fiecare dintre acest număr de structuri proteice ar depăşi cu mult cea a universului!

Aminoacizii care alcătuiesc lanţurile polipeptidice şi structura primară a proteinelor pot forma legături cu alţi aminoacizi din polipeptidă prin legături de hidrogen şi legături disulfurice. Aceste legături provoacă îndoirea lanţurilor polipeptidice în structuri încolăcite sau pliate, care

determină structura secundară a proteinei. Structura secundară cea mai stabilă şi cel mai frecvent observată este o bobină dreaptă numită „alfa helix” în care legăturile de hidrogen (Figura 6.1) se formează între un oxigen şi un hidrogen separaţi prin 3 sau 4 aminoacizi pe lanţul polipeptidic. Alfa helixurile pot interacţiona între ele într-o proteină, stivuindu-se în aranjamente paralele sau antiparalele sau formând „coili-bobine” stângi. Alfa helixurile (Figura 6.2) sunt apariţii frecvente într-o mare varietate de proteine; tubulina este de aproximativ 40 la sută alfa helix în majoritatea circumstanţelor (Dustin, 1978). Alfa helixul a fost propus ca un loc important de transfer de energie şi informaţii în proteine. Davydov a propus că energia hidrolizei ATP utilizată în contracţia musculară actina-miozină şi multe alte evenimente biologice este transmisă de-a lungul căilor alfa helixului prin „solitoni” propaganţi care apar din cauza cuplării anharmonice în legăturile duble carbon-oxigen (Secţiunea 6.7).

Legăturile de hidrogen care se formează între grupurile laterale ale aminoacizilor pe lanţurile polipeptidice în paralel au ca rezultat configuraţii secundare proteice plane numite foi beta pliate. Propuse pentru prima dată de Linus Pauling în 1951, foile beta pliate se pot alinia singure în formaţii paralele, antiparalele sau mixte.

Helixurile alfa, foile pliate beta şi alte structuri secundare interacţionează pentru a defini structura terţiară a proteinelor, de care depind majoritatea funcţiilor proteinelor. Forţele hidrofobe, distribuţia sarcinilor, punţile disulfurice şi structura secundară au ca rezultat plierea în regiuni globulare care definesc forma unităţilor proteice unice. Helixurile alfa şi foile pliate beta se împachetează în aranjamente care ajută la determinarea domeniilor structurale terţiare care au adesea funcţii specifice, cum ar fi legarea unei molecule sau asocierea cu alte domenii pentru a crea structuri mai mari. Asamblarea grupurilor de structură terţiară determină structura cuaternară, cum ar fi subunităţile de tubulină care se asamblează în microtubuli. În general, interacţiunile hidrofobe, cum ar fi forţele Van der Waals, sunt importante în asamblările proteice cuaternare.

Nivelurile de asamblare a proteinelor includ, la cel mai simplu nivel, enzimele monomerice. Cântărind de la 20 la 90 de kilodaltoni, aceste enzime au un singur loc activ la care molecule specifice suferă reacţii chimice facilitate ("catalizate") de enzimă. Unele enzime pot necesita ioni metalici, molecule organice sau cofactori specifici pentru a funcţiona. Activitatea enzimatică redusă poate rezulta din ocuparea locului activ de către molecule rezistente la acţiunea enzimatică, un fenomen numit "inhibiţie competitivă". Legarea la locul activ corespunde cu stări conformaţionale specifice ale enzimelor.

Un sistem mai complex este enzima oligomerică, un exemplu fiind receptorul de acetilcolină: un oligomer cu patru subunităţi care este activat prin legarea acetilcolinei. Fiind compusă din mai multe subunităţi, aceasta duce la proprietăţi colective care apar din organizarea şi interacţiunile componentelor. Multe sau poate majoritatea enzimelor sunt oligomerice cu greutăţi moleculare cuprinse între 35 şi câteva mii de kilodaltoni. Subunităţile oligomerice au adesea două locuri de legare; unul este locul activ pentru acţiunea sa enzimatică, iar celălalt este un loc regulator care controlează locul activ printr-o modificare a formei sau conformaţiei subunităţii. Moleculele regulatoare sau efectorii pot schimba nu numai activitatea locului catalitic pe acea subunitate (alosterism), ci şi pe subunităţile adiacente (cooperativitate). Subunităţile oligomere pot fi asemănătoare (homopolimeri) sau diferite (heteropolimeri), iar coenzimele pot fi necesare. O singură moleculă de coenzimă poate "activa" capacităţile de legare ale mai multor subunităţi în cadrul unei enzime oligomerice (Roth şi Pihlaja, 1977).

Exemple de enzime oligomerice includ glutamat dehidrogenaza, compusă din şase subunităţi de 55 kilodaltoni, formând un complex cu dimensiuni aproximative de 100 pe 100 pe 80 de nanometri. Un exemplu de oligomer mai complex este aspartat transcarbamilaza. Conţine şase unităţi regulatoare de aproximativ 34 kilodaltoni, fiecare compusă din 3 dimeri. Alte şase subunităţi catalitice de 100 kilodaltoni sunt fiecare compuse din doi trimeri. Şase atomi de zinc sunt necesari în fiecare dintre subunităţile regulatoare. Un alt oligomer cooperativ este hemoglobina, compusă din două subunităţi "alfa" şi două "beta"; au fost observate şi multe alte modele de enzime oligomerice. Subunităţile enzimatice oligomerice au interacţiuni cooperative, ceea ce înseamnă că funcţia unei subunităţi facilitează acţiunile conformaţionale ale altor subunităţi. În hemoglobină, condiţiile

suficiente pentru legarea unei molecule de oxigen la o subunitate fac ca subunitățile rămase să lege oxigenul mai ușor. Asamblările proteice mai complexe includ polimeri cito-scheletici și învelișuri virale. Interacțiunile cooperative ale subunităților lor pot duce la procesarea informațiilor și, prin urmare, la comportament inteligent.

## 6.2. Conformația proteinelor

La nivelul structurii terțiare, majoritatea moleculelor proteice sunt capabile să treacă reversibil între mai multe conformații stabile diferite, dar înrudite și sunt cunoscute ca proteine alosterice. Aceste proteine pot fi capabile să formeze mai multe seturi alternative de legături de hidrogen, punți disulfură și forțe Van der Waals de energie aproximativ egală între lanțurile laterale de aminoacizi care le compun. Fiecare set alternativ de legături intraproteice și de distribuție a sarcinilor necesită o modificare a relațiilor spațiale dintre componentele lanțurilor polipeptidice și, astfel, se produce o mișcare între stări. Numai anumite conformații distincte sunt favorabile din punct de vedere energetic și orice conformații intermediare sunt instabile și puțin probabile. Redistribuirea încărcăturii (adică oscilația dipolului) se poate cupla, de asemenea, la schimbarea conformațională. Astfel, se produc salturi neliniare, în trepte, între conformații specifice, astfel încât pentru o anumită proteină există doar un număr discret de conformații alternative, iar trecerea aleatorie de la o conformație la alta este limitată.

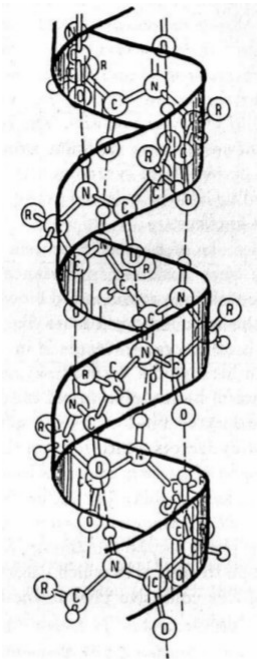

*Fig. 6.2: Helix alfa cu trei „spini” formați prin legături de hidrogen (linii punctate) între atomii de hidrogen și oxigen. Cu permisiunea lui Bolterauer, Henkel și Opper (1986).*

Fiecare conformație distinctă a unei proteine alosterice are o suprafață diferită și o capacitate diferită de a interacționa cu alte molecule de legare sau "liganzi". Doar una dintre mai multe conformații poate avea o afinitate mare pentru un anumit ligand, iar prezența sau absența acelui ligand poate determina conformația pe care o adoptă proteina. Doi liganzi distincți se pot lega specific de suprafețe diferite ale aceleiași proteine, astfel încât concentrația unui ligand poate schimba afinitatea proteinei pentru celălalt. Astfel de mecanisme alosterice facilitează reglarea fină și controlul multor procese biologice în care proteinele transduc, sau integrează diverse moduri de semnalizare și informație. Proteinele alosterice sunt dispozitive de semnalizare deosebit de eficiente atunci când există ca agregate de subunități identice. Conformația unei subunități poate influența pe cea a subunităților vecine, producând un efect colectiv similar cu amplificarea sau comutarea într-un calculator. Comportamentul colectiv al hemoglobinei în legarea sa de oxigen este un exemplu; transformările de stare în microtubuli pot fi un altul.

Starea conformațională a unei proteine specifice este reglată de o varietate de factori și poate avea o importanță profundă pentru activitatea funcțională. Hemoglobina este o proteină care conține fier în celulele roșii din sânge, care transportă oxigenul de la plămâni la diverse țesuturi ale corpului, cum ar fi creierul, inima sau mușchii. Hemoglobina care leagă o moleculă de oxigen este într-o conformație diferită ("oxihemoglobină") față de hemoglobina fără oxigen ("deoxihemoglobină"). Starea conformațională a hemoglobinei găsită în interiorul celulelor roșii din sânge determină capacitatea proteinei de a lega sau de a elibera oxigen. Conformația hemoglobinei este determinată de factori care includ disponibilitatea oxigenului, temperatura, pH-ul, prezența anumitor alte molecule (adică 2,3 DPG) și cantitatea de oxihemoglobină din apropiere. Acesta din urmă descrie un efect "colectiv"; când o cantitate critică de hemoglobină leagă oxigenul, conformația oxihemoglobinei este mai ușor de obținut pentru moleculele proteice rămase. Acest lucru are ca rezultat o formă "sigmoidă" a curbei care descrie legarea oxigen/hemoglobină. Natura acestui fenomen colectiv este o indicație a comportamentului ansamblurilor proteice.

Diferite frecvențe ale schimbărilor conformaționale coexistă cooperativ în aceeași proteină (Tabelul 6.1). Unele conformații total reversibile, cum ar fi oxihemoglobina, persistă timp de zeci de secunde; altele pot fi de foarte scurtă durată (adică femtosecunde: $10^{-15}$ secunde) sau foarte lungi (minute până la ore). Conformația oxihemoglobinei persistă până când molecula de oxigen este livrată țesutului ale cărui mitocondrii o folosesc pentru a produce ATP și GTP. Pentru a ajunge la siturile lor de legare în interiorul miezului central al hemoglobinei, moleculele de oxigen difuzează prin defecte tranzitorii de ambalare în structura proteinei. "Respirația" conformațională la scară nanosecundă permite moleculelor de oxigen să intre și să iasă, în funcție de pH-ul, temperatura, hormonii și alți factori din jur. Astfel, par a exista cel puțin două niveluri de stări conformaționale în hemoglobină. Conformația "funcțională" (legarea vs. neligarea oxigenului) este relativ de lungă durată (suficient de lungă pentru a transporta oxigenul de la plămâni la țesut pentru livrare). În plus, există vibrații conformaționale mai rapide, cum ar fi "respirația" nanosecundă, care facilitează difuzia moleculelor de oxigen prin hemoglobină pentru a ajunge la siturile lor de legare.

| | |
|---|---|
| Amplitudinea mișcărilor | 0,001 nanometri până la 10 nanometri |
| Energia | 0,1 kilocalorii până la 100 kilocalorii |
| Interval de timp | $10^{-15}$ secunde (femtosecunde) până la $10^{3}$ secunde (multe minute) |
| Timpul pentru măsuri colective, funcționale | $10^{-9}$ sec (nanosecunde) |
| Tipuri de mișcare | fluctuații atomice locale |
| | oscilații ale lanțului lateral |
| | deplasări ale buclelor, brațelor, elicelor, domeniilor și subunităților |
| | moduri colective ale corpului elastic, fluctuații atomice cuplate, solitoni și alte mișcări neliniare, excitații coerente |

*Tabelul 6-1: Dinamica conformațională a proteinelor - Mișcările proteinelor globulare la temperatura fiziologică (Modificat după Karplus și McCammon, 1984).*

Marea majoritate a proceselor de interes biologic sunt la o scară de timp mai mare de o nanosecundă, care se află, de asemenea, în domeniul modului colectiv pentru dinamica proteinelor (Karplus și McCammon, 1984). Modificările conformaționale ale proteinelor în intervalul de timp nanosecundă pot fi cuplate la un stimul și pot duce la o modificare conformațională funcțională. Trei caracteristici fundamentale par să controleze aceste stări funcționale: interacțiunile hidrofobe, redistribuirea sarcinilor și legăturile de hidrogen. Stimuli adecvați, inclusiv neurotransmițători,

modificări de tensiune, hormoni, ioni precum calciul şi substraturile enzimatice, pot induce modificări conformaţionale în cadrul proteinelor specifice. Transducţia conformaţională este legătura sensibilă în mecanismul moleculelor de gaz anestezic (Capitolul 7) şi indică faptul că funcţiile cognitive legate de conştiinţă depind într-un fel de reglarea conformaţională a proteinelor. În multe cazuri, proteinele "integrează" un număr de factori pentru a rezulta într-o nouă conformaţie (Figura 6.3). Porţiuni ale proteinelor pot fi active dinamic cu importanţă funcţională. De exemplu, procesele de transfer de electroni, cum ar fi cele care apar în producţia mitocondrială de ATP, pot depinde de cuplajul vibraţional şi de fluctuaţiile care modifică distanţele dintre donatorii şi acceptorii de electroni. Mişcările relative ale domeniilor structurale distincte din cadrul proteinelor sunt importante în activităţile lor legate de contracţia musculară, activităţile enzimatice, funcţiile anticorpilor şi asamblarea şi activităţile structurilor supra-moleculare, cum ar fi virusurile şi proteinele cito-scheletice. Modificările conformaţionale dinamice ale proteinelor sunt dinamica organismelor vii.

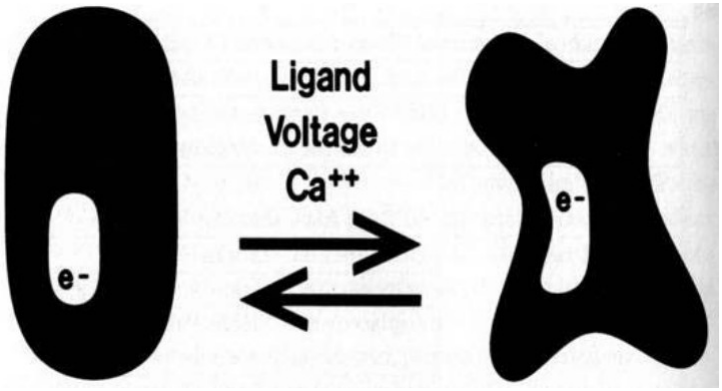


*Fig. 6.3: Comutarea proteinei între două stări conformaţionale diferite indusă de legarea ligandului, de ionul de calciu sau de schimbarea tensiunii. Un mecanism propus de Fröhlich este că oscilaţiile dipolare (e) din regiunile hidrofobe ale proteinelor pot fi un declanşator sau un comutator pentru întreaga proteină.*

## 6.3. Proteinele şi energia

Toate mişcările din celule depind de forţele generate de proteine. O proteină alosterică tipică poate adopta două conformaţii alternative - o formă cu energie joasă şi o formă cu energie înaltă, care diferă cu aproximativ energia disponibilă din formarea câtorva legături de hidrogen pe suprafaţa proteinei. Conformaţia cu energie joasă va fi favorizată cu un raport de aproximativ 1.000 la 1, iar proteina va tinde să fie în această conformaţie "inactivă", cu excepţia cazului în care este influenţată de alţi factori. Poate fi "trasă" în conformaţia activă cu energie înaltă prin legarea de un ligand care se leagă doar de starea cu energie înaltă. De asemenea, o intrare de energie chimică poate fi utilizată pentru a "împinge" proteina în conformaţia cu energie înaltă. Un mecanism comun implică transferul şi legarea covalentă a unui grup fosfat din surse de energie biochimică precum ATP sau GTP la una dintre mai multe lanţuri laterale de aminoacizi (serină, treonină sau tirozină) din proteină. Această "fosforilare" poate crea o distribuţie a lanţurilor laterale de aminoacizi încărcaţi, care sunt mai favorabile unei conformaţii decât alteia, lăsând conformaţia nefosforilată indisponibilă. Zece la sută din toate proteinele celulare de mamifere suferă fosforilare ca mecanism de reglementare sau de programare (Alberts et al., 1983).

Legile termodinamicii cer ca energia liberă să fie epuizată atunci când se efectuează lucru. Prin urmare, moleculele proteice nu pot prezenta mişcare netă (ca microtubulii şi alte proteine citozcheletice) fără o sursă suplimentară de energie. Fosforilarea este o modalitate de a face un pas ireversibil. O alta este de a determina modificări alosterice prin hidroliza unei molecule de ATP, convertind-o în ADP (sau hidrolizarea GTP la GDP). Energia eliberată în reacţia de hidroliză este imprimată proteinei, împingând-o într-o stare de energie mai mare. Mecanismul precis prin care această energie este utilizată şi transferată de proteine este necunoscut.

Pe lângă generarea de forță mecanică, proteinele alosterice pot utiliza energia fosforilării și hidrolizei ATP pentru a face alte forme de lucru, cum ar fi pomparea ionilor specifici în sau în afara celulei. O proteină alosterică cunoscută sub numele de "sodiu potasiu ATPază", care se găsește în membrana tuturor celulelor animale, inclusiv celulele nervoase, pompează trei ioni de sodiu în afara celulei și doi ioni de potasiu în timpul fiecărui ciclu de schimbare conformațională determinat de fosforilarea mediată de ATP. Această pompă acționată de ATP creează gradienți de ioni prin membrana celulară. Energia stocată în gradienții de ioni este valorificată de schimbările conformaționale în alte proteine membranare: canalele ionice. Când acestea sunt declanșate să se deschidă în membranele nervoase, o modificare conformațională inițiată de o schimbare de voltaj, legarea ligandului sau efectul alosteric de la proteina membranară sau citozcheletală permite ionilor să difuzeze pasiv. Trecerea ionilor încărcați depolarizează membrana ca parte a unui potențial local poartat sau a unui potențial de acțiune în mișcare.

Fluxul ionic poate, de asemenea, acționa alte pompe proteice legate de membrană care transportă glucoză sau aminoacizi în celulă. Energia disponibilă în gradienții de protoni/ioni de hidrogen prin membranele mitocondriale interne este utilizată pentru a sintetiza cea mai mare parte a ATP utilizat în lumea animală. Actina și miozina și alte proteine creează forță contractilă în mușchi prin schimbări conformaționale cooperative induse de hidroliza ATP. În cadrul ciliatelor care se îndoaie, punțile proteice contractile care se întind între microtubuli hidrolizează ATP pentru a-și stimula activitățile mecanice. ATP și alte molecule producătoare de energie sunt combustibilul motoarelor proteinelor biologice. Mai puțin bine înțeles este însă controlul, ghidarea și orchestrarea acestora.

## 6.4. Cooperativitatea proteinelor - viziune istorică

O idee interesantă privind controlul stării conformaționale a proteinelor și utilizarea energiei a fost propusă de Szent-Gyorgyi (1948). El a sugerat că proteinele se comportă ca niște semiconductori și că electronii "sar" între anumite regiuni intraproteice. Cu toate acestea, datele experimentale au arătat că diferența de bandă energetică intraproteică era prea mare pentru a susține un astfel de concept. Utilizarea energiei dinamice de conformație biologică și proteică a rămas enigmatică în anii 1950 și 1960.

Un punct central în istoria încercărilor de a înțelege dinamica conformațională a proteinelor a fost o reuniune din 1973 a Academiei de Științe din New York (care a găzduit, de asemenea, o reuniune de referință privind microtuburile în același an). Misterele gemene ale modului în care energia ATP a fost utilizată pentru a produce evenimente mecanice ale proteinelor și modul în care energia și informațiile au fost transferate în proteine și organite au fost abordate de o galerie de oameni de știință. Tema predominantă a fost „o criză în bioenergetică”, în sensul că procesele cooperative de importanță evidentă în sistemele biologice au rămas neexplicate. O idee care a generat controverse a fost aceea că energia de rezonanță electromagnetică a fost transferată între locurile de excitație dispuse periodic. La acea reuniune, C. W. F. McClare (1974) a propus ca stările excitate induse de ATP ("excitoni") să fie cuplate de dipolii infraroșii în biostructurile proteice pentru a furniza un mediu de comunicare. McClare a concluzionat:

> există încă un nivel de organizare în sistemele biologice: o rezonanță reglată între nivelurile de energie din diferite molecule care permite mașinilor bioenergetice să funcționeze rapid și eficient.

Acest concept a fost susținut de mai mulți aliați, inclusiv Wei (1974), care a sugerat cuplarea dipolilor între proteinele de membrană pentru a explica funcțiile nervoase. Modelul general al cuplării prin rezonanță a dipolilor propus de McClare a fost întâmpinat însă cu scepticism. Biochimistul foarte respectat Gregorio Weber (1974) a ridicat două obiecții. Acesta a remarcat că cel puțin o parte din energia emisă în urma excitării moleculare este emisă în $10^{-12}$ secunde, o perioadă prea scurtă pentru a putea fi utilizată de biomolecule. Cea de-a doua obiecție se referea la transferul energiei vibraționale cuantice prin mediul înconjurător. Procesul de cuplare dipol-dipol

implică o similitudine a energiilor emise şi primite şi necesită ca oscilatoarele care interacţionează să fie înconjurate de un mediu transparent la lungimea de undă a cuantei de energie transferate. Apa înconjoară fiecare biomoleculă şi oferă un mediu care părea a fi opac la energia infraroşie descrisă de McClare. Weber a insinuat că orice energie emisă s-ar disipa sub formă de căldură în mediul acvatic. McClare a replicat, fără a convinge, că sistemele ar fi putut evolua pentru a putea încetini relaxarea şi emisia de energie şi că astfel de sisteme ar putea fi cumva separate de faza apoasă. Un consens a fost că energia trebuia stocată timp de o nanosecundă sau mai mult pentru a fi utilă.

Modul de transfer al energiei şi informaţiilor a fost descris în alte moduri comparabile de către diferiţi oameni de ştiinţă. Mai mulţi au luat în considerare propagarea pachetelor de energie conformaţională sau acustică: "fononi". Un fonon poate fi definit ca o vibraţie de reţea propagată, o vibraţie intranucleară a unei legături carbon-azot care se propagă într-o reţea proteică. Transmiterea fononilor are loc cu viteza sunetului, deci nu sunt fenomene de transfer prin rezonanţă, ci o vibraţie propagată într-o reţea periodică. În 1967, Straub a postulat că reţelele proteice conţin fononi care trebuie izolaţi de mediul lor acvatic. La reuniunea Academiei din New York din 1973, el a sugerat că interacţiunile hidrofobe, cum ar fi forţele Van der Waals, ar putea conţine fononi în reţea şi le-ar putea proteja de baia acvatică. Conceptul de "conformon", o cuantă de energie conformaţională a proteinelor cuplată la stări proteice discrete, a fost descris independent de Green (1970) şi Ji (1974) în America şi de Volkenstein (1972) în Uniunea Sovietică. Mai târziu, A. S. Davydov din Uniunea Sovietică a propus ca mişcările mecanice conformaţionale din proteine să fie cuplate neliniar la distorsiunea legăturilor electronice sau la mişcarea de sarcină, rezultând unde propagate numite "solitoni". Aceste modele s-au confruntat cu o problemă comună de protejare de mediul acvatic. O posibilă rezolvare a acestei probleme este că apa care înconjoară proteinele poate fi "ordonată" şi cuplată în rezonanţă, mai degrabă decât disiparea termică a energiei de excitaţie a proteinelor. O alta este că interacţiunile hidrofobe exclud apa din zonele în care au loc interacţiuni bioenergetice importante.

## 6.5. Apa vie și interacțiunile hidrofobe

Biomoleculele au evoluat şi au înflorit în medii apoase, iar interacţiunile de bază dintre biomolecule şi gazdele lor omniprezente, moleculele de apă, sunt extrem de importante. Proprietăţile apei intracelulare sunt controversate. Mulţi autori consideră că mai mult de 90% din apa intracelulară este în faza „bulk” - apa aşa cum există în oceane (Cooke şi Kuntz, 1974; Schwan şi Foster, 1977; Fung şi McGaughy, 1979). Această viziune tradiţională este contestată de alţii care consideră că niciuna dintre apele din celulele vii nu este de tip bulk (Troshin, 1966, Cope 1976, Negendank şi Karreman, 1979). O poziţie intermediară este asumată de cei care consideră că aproximativ jumătate din apa „vie” este de tip bulk şi cealaltă jumătate „ordonată” (Hinke, 1970; Clegg, 1976; Clegg, 1979; Horowitz şi Paine, 1979). Acest grup subliniază importanţa apei „ordonate” pentru structura şi funcţia celulară.

Multe tehnici au fost utilizate pentru a studia această problemă, dar rezultatele necesită încă o mare interpretare. Rezonanţa magnetică nucleară (RMN), difracţia neutronilor, măsurarea capacităţii termice şi studiile de difuzie sunt toate neconcludente. Apa pare să existe atât în forme ordonate, cât şi în forme apoase în interiorul celulelor. Problema critică este relaţia dintre suprafeţele intracelulare şi apă. Se ştie că suprafeţele de tot felul perturbă apa adiacentă, dar în interiorul celulelor nu se ştie exact cât de departe de suprafeţe se poate extinde ordonarea. Ştim că suprafaţa reţelei microtrabeculare şi a altor componente ale citoscheletului este extinsă (miliarde de nanometri pătraţi pe celulă) şi că aproximativ o cincime din interiorul celulei este formată din aceste componente. Biologul James Clegg (1981) a revizuit pe larg aceste probleme. El concluzionează că apa intracelulară există în trei faze. 1) „Apa legată” este implicată în hidratarea primară, aflându-se la una sau două straturi de la suprafaţa unei biomolecule. 2) „Apa vicinală” este ordonată, dar nu este legată direct de structuri, cu excepţia altor molecule de apă. Se crede că această apă modificată se extinde pe 8 până la 9 straturi de molecule de apă de la suprafeţe, o distanţă de aproximativ 3 nanometri. Garlid (1976, 1979) a arătat că apa vicinală are proprietăţi de solvent distincte, care

diferă de apa de tip bulk. Astfel, există „frontiere” între fazele apei care împart moleculele de solut. 3) „Apa de tip bulk” se extinde dincolo de 3 nanometri de suprafețele citoscheletale (Figura 6.4).

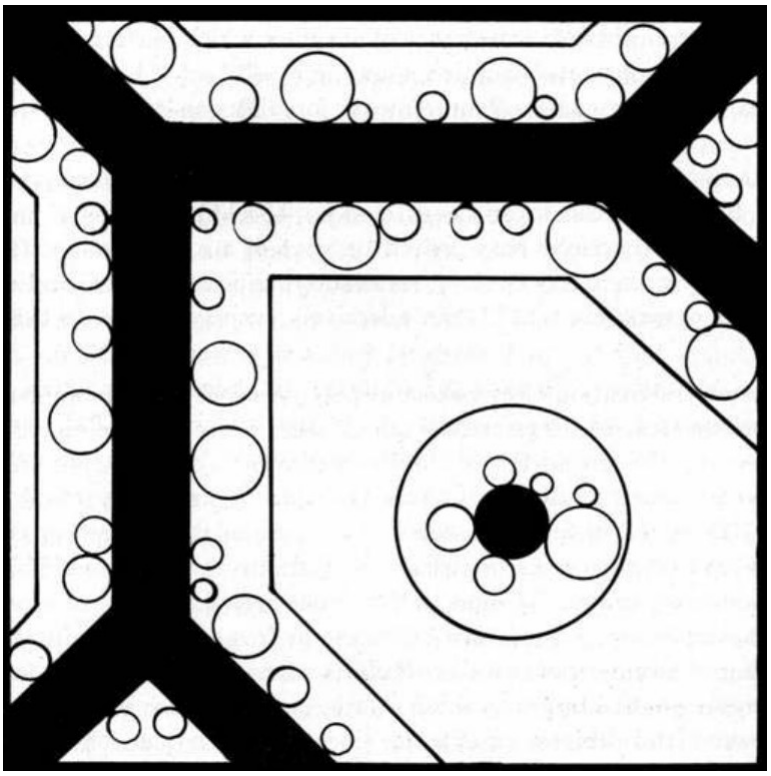

*Fig. 6.4: Rețea microtrabeculară (MTL - întuneric solid) cu straturi de apă ordonată şi vicinală Enzimele „solubile” (cercuri) sunt ţinute în apă ordonată sau „vicinală” şi pot fi reglementate funcţional de MTL Modificat după Clegg (1984) de Paul Jablonka*.

Drost-Hansen (1973) a descris procese cooperative şi tranziţii de fază între moleculele de apă vicinale. Clegg subliniază implicaţiile potenţiale ale apei vicinale asupra funcţiei enzimelor care au fost considerate anterior „solubile”. În loc să plutească liber într-o supă apoasă, o serie de enzime intracelulare par să fie legate de suprafaţa MTL în faza de apă vicinală. Un astfel de aranjament pare să prezinte avantaje semnificative: o secvenţă de enzime care efectuează o secvenţă de reacţii pe un substrat ar fi mult mai eficientă dacă ar fi legată pe o suprafaţă în ordinea corespunzătoare. Necesităţile de difuzie a substratului, etapa cea mai consumatoare de timp în procesele enzimatice, ar fi minime. Clegg prezintă numeroase exemple de asociaţii de enzime citoplasmatice care par să fie ataşate la MTL şi reglementate de acesta. Aceste complexe multienzimatice cu apă vicinală ar putea într-adevăr să facă parte dintr-un sistem citoscheletal de procesare a informaţiilor. Clegg presupune că activităţile conformaţionale dinamice din cadrul citoscheletului/MTL pot excita selectiv enzimele în stările lor active.

Polimerizarea polimerilor cito scheletici şi a altor biomolecule pare să curgă în amonte împotriva curentului de ordine care merge spre dezordine, ceea ce este decretat de a doua lege a termodinamicii. Această aparentă crimă la a doua lege este explicată de activităţile moleculelor de apă implicate (Gutfreund, 1972). Chiar şi într-o soluţie apoasă în vrac, moleculele de apă sunt oarecum ordonate, în sensul că fiecare moleculă de apă poate forma până la 4 legături de hidrogen cu alte molecule de apă. Mişcarea moleculelor de apă (dacă nu sunt îngheţate) şi ruperea şi reformarea reversibilă a acestor legături de hidrogen menţin natura lichidă familiară a apei în vrac. Suprafeţele exterioare ale biomoleculelor formează legături de hidrogen mai stabile cu apa, „ordonând” apa care le înconjoară. Aceasta duce la o scădere a entropiei (ordine crescută) şi la o creştere a energiei libere: factori care ar inhiba puternic solubilitatea biomoleculelor, dacă nu ar fi efectele interacţiunilor hidrofobe. Grupurile hidrofobe (de exemplu, aminoacizi ale căror grupuri laterale sunt non-polare, adică nu au grupuri polare încărcate pentru a forma legături de hidrogen în apă) tind să se combine sau să se coaleseze din două motive principale: forţele Van der Waals şi

excluderea apei. Combinarea grupurilor hidrofobe „eliberează” apa ordonată în apă liberă, rezultând o creştere a entropiei şi o scădere a energiei libere, factori care tind să conducă reacţiile. Amplitudinea schimbării favorabile a energiei libere pentru combinarea grupurilor hidrofobe depinde de dimensiunea lor şi de cât de bine se potrivesc împreună „steric”. O potrivire strânsă între grupuri va exclude mai multă apă din regiunile hidrofobe decât se vor potrivi liber. Prin urmare, reacţiile biologice specifice se pot baza pe interacţiuni hidrofobe. Formaţia structurii proteice terţiare şi cuaternare (inclusiv asamblarea microtubulilor şi a altor polimeri cito scheletici) sunt reglementate în mare măsură de interacţiuni hidrofobe şi de efectul regiunilor hidrofobe asupra energiilor altor legături. Un exemplu bine studiat de asamblare a subunităţilor proteice într-o structură complexă, fiind însoţită de o creştere a entropiei (scăderea ordinii) este cristalizarea virusului mozaicului tutunului. Când virusul se asamblează din subunităţile sale, are loc o creştere a entropiei datorită excluderii apei de pe suprafaţa virusului. Evenimente similare promovează asamblarea microtubulilor şi a altor elemente cito scheletice.

Forţele de atracţie care leagă grupurile hidrofobe sunt net diferite de alte tipuri de legături chimice, cum ar fi legăturile covalente şi legăturile ionice. Aceste forţe sunt denumite forţe Van der Waals, după numele chimistului olandez care le-a descris în 1873. La acea dată, se observase experimental că moleculele de gaz nu reuşeau să urmeze comportamentul prezis de „legile gazului ideal” cu privire la relaţiile dintre presiune, temperatură şi volum. Van der Waals a atribuit această abatere volumului ocupat de moleculele de gaz şi forţelor de atracţie dintre moleculele de gaz. Aceleaşi forţe de atracţie sunt vitale pentru asamblarea cristalelor organice, inclusiv pentru asamblarea proteinelor. Ele constau în atracţia dipol-dipol, „efectul de inducţie” şi forţele de dispersie London. Aceste forţe hidrofobe Van der Waals sunt subtil vitale pentru asamblarea şi funcţionarea unor importante biomolecule.

Atracţiile dipol-dipol apar între molecule cu momente dipolare permanente. Doar anumite orientări sunt favorizate: aliniamente în care apar aranjamente atractive, cu energie scăzută, spre deosebire de orientările repulsive, cu energie ridicată. O atracţie netă între două molecule polare poate rezulta dacă dipolii lor sunt configuraţi corect. Efectul de "inducţie" apare atunci când un dipol permanent într-o moleculă poate polariza electronii dintr-o moleculă apropiată. Electronii celei de-a doua molecule sunt distorsionaţi astfel încât interacţiunea lor cu dipolul primei molecule este atractivă. Magnitudinea forţei de atracţie a dipolului induse a fost demonstrată de Debye în 1920 că depinde de momentele dipolare ale moleculelor şi de polarizabilitatea lor. Definită ca momentul dipolar indus de un câmp standard, polarizabilitatea depinde, de asemenea, de orientarea moleculelor în raport cu acel câmp. S-a demonstrat că subunităţile ansamblurilor de proteine, cum ar fi virusul mozaic al tutunului, au grade ridicate de polarizabilitate. Forţele de dispersie London explică de ce toate moleculele, chiar şi cele fără dipoli intrinseci, se atrag reciproc. Efectul a fost recunoscut de F. London în 1930 şi depinde de mişcarea mecanico-cuantică a electronilor. Electronii din atomii fără momente dipolare permanente (şi electronii "partajaţi" în molecule) au, în medie, un dipol zero, cu toate acestea, "dipolii instantanee" pot fi recunoscuţi. Dipolii instantanee pot induce dipoli în atomi sau molecule polarizabile vecine. Puterea forţelor London este proporţională cu pătratul polarizabilităţii şi invers proporţională cu a şasea putere a separării. Astfel, forţele London pot fi semnificative numai atunci când două sau mai multe atomi sau molecule sunt foarte aproape unul de celălalt (Barrow, 1966). Lindsay (1987) a observat că apa şi ionii ordonaţi pe suprafeţele macromoleculelor biologice pot avea "fluctuaţii corelate" analoge forţelor London între electroni. Deşi individual slabe, aceste forţe şi altele sunt "cleiul" colectiv al sistemelor vii dinamice.

## 6.6. Efectele Electret, Piezo și Pyroelectric

Ansamblurile ale căror subunităţi microscopice şi ansamblu macroscopic posedă dipoli electrici permanenţi sunt cunoscute sub denumirea de *electreţi*. Ei prezintă proprietăţi cunoscute sub numele de piezoelectricitate şi piroelectricitate care pot fi utile în activităţile biologice. În aceste cristale, subunităţile elementare dipolare sunt dispuse astfel încât toate capetele dipolilor pozitivi sunt orientate într-o direcţie şi toate capetele dipolilor negativi sunt orientate în direcţia opusă. În microtubuli, capetele pozitive ale subunităţilor dimerice ale tubulinei sunt orientate departe de

centrele de organizare a microtubulelor (MTOC) spre periferia celulei, iar capetele negative sunt orientate spre MTOC. Electreții pot stoca sarcina și polarizarea și au fost identificați într-o varietate de materiale nebiologice, cum ar fi cristalele ionice, solidele moleculare, polimerii, sticlele, gheața, cristalele lichide și ceramica. Țesuturile biologice care prezintă proprietăți *electret* includ oasele, materialele pereților vaselor de sânge, keratina, celuloza, colagenul, gelatina, polipeptidele artificiale, keratina, ADN-ul, celuloza și microtubulele (Athenstaedt, 1974). Un efect *electret* explică proprietăți specifice, cum ar fi anti-coagularea sângelui în biomateriale și caracterul neaderent al teflonului. Sursele de polarizare sau de stocare a sarcinilor în macromolecule sunt dipolii, sarcinile spațiale ionice sau apa de suprafață ordonată.

Materialele *electret* sunt piezoelectrice (Gubkin și Sovokin 1960). Materialele piezoelectrice își schimbă forma sau conformația ca răspuns la stimuli electrici și își schimbă starea electrică ca răspuns la stimuli mecanici. Koppenol (1980) a arătat că orientarea momentului dipolar al unei enzime se modifică în concert cu activitatea sa funcțională. Electreții sunt, de asemenea, „piroelectrici", în sensul că orice schimbare de temperatură modifică caracteristicile electrice și conformaționale ale moleculei. Momentul de dipol electric permanent al corpurilor piroelectrice rezultă din alinierea paralelă a momentelor dipolare elementare fixe. Orice schimbare de temperatură modifică lungimea corpului piroelectric și alterează momentele sale dipolare elementare (efect piroelectric). În același mod, orice schimbare mecanică a lungimii sau orice deformare a unui corp piroelectric produce o modificare a momentului său dipolar (efect piezoelectric). Astfel, fiecare corp piroelectric este în același timp piezoelectric. Cele două cerințe pentru un astfel de comportament sunt o proprietate electrică care provoacă un moment de dipol permanent în molecule și o proprietate morfologică care favorizează o aliniere paralelă. Microtubulii și alte structuri citoscheletice par a fi dispozitive electret, piroelectrice, piezoelectrice proiectate în mod corespunzător.

Starea electret în os a fost bine studiată și este capabilă să stocheze cantități mari de polarizare de ordinul a $10^{-8}$ coulomb pe centimetru pătrat (Mascarenhas, 1974, 1975). Limita separării sarcinii (echivalentă cu densitatea maximă a informației) a fost calculată (Gutman, 1986) ca fiind de aproximativ $10^{17}$ sarcini electronice pe centimetru cubic, în timp ce pot exista aproximativ $10^{21}$ molecule totale pe centimetru cubic. Un centimetru cub de microtubuli paraleli aranjați dens la 100 nanometri distanță conține aproximativ $10^{17}$ subunități de tubulină și, prin urmare, poate conține $10^{17}$ dipoli echivalenți cu densitatea maximă de sarcină! Proprietățile *electret* și cele conexe pot conferi proprietăți interesante și potențial utile biomoleculelor, inclusiv polimerilor citoscheletici. Printre acestea se numără capacitatea potențială de a susține propagarea undelor conformaționale, cum ar fi *solitoni*.

## 6.7. Solitoni/Davydov

Evenimentele biologice importante implică transferul spațial de energie de-a lungul moleculelor de proteine. Un exemplu binecunoscut este ondularea contractilă a capetelor de miozină în contracția musculară, alimentată de hidroliza moleculelor de ATP. Aceste cuante de energie biologică sunt echivalente cu 0,43 electroni volți, de doar 20 de ori mai mari decât energia de fond și insuficiente pentru a excita stările electronice moleculare. În consecință, în condiții obișnuite, sistemele biologice nu emit fotoni. Acest lucru a implicat pentru Davydov (1977) în anii 1970 că energia de hidroliză a ATP este transferată prin excitații vibraționale ale anumitor grupuri atomice din proteine. Davydov s-a concentrat pe regiunile alfa-helix ale proteinelor și a identificat vibrația de întindere "amidă 1" (legătură dublă carbon-oxigen) a grupului peptidic ca fiind "coșul" cel mai probabil în care poate fi transportată energia. Selecția sa s-a bazat pe aranjamentul "cvasi-periodic" sau asemănător cristalelor al legăturilor amidă 1, energia lor vibrațională scăzută (0,21 electroni volți - jumătate din energia hidrolizei ATP) și momentul lor dipolar marcat (0,3 Debye). Conform analizei liniare, energia transportată prin acest mijloc ar trebui să se răspândească din cauza efectelor dispersiei și să devină rapid dezorganizată și pierdută ca sursă de acțiune biologică. Cu toate acestea, Davydov a analizat aspectele neliniare ale întinderii amidei 1 și a concluzionat că vibrațiile amidei 1 sunt cuplate retroactiv cu unde sonore longitudinale ale alfa-helixului și că

excitația cuplată se propagă ca o entitate localizată și dinamică auto-suficientă, numită undă solitară sau "soliton". Davydov a argumentat că vibrațiile amidei 1 generează unde sonore longitudinale care, la rândul lor, oferă un potențial bun care previne dispersia vibrațională, astfel încât solitonul "se menține împreună".

Undele solitare au fost descrise pentru prima dată de inginerul naval din secolul al XIX-lea John Scott-Russell în 1844. În timp ce efectua o serie de experimente de forță-viteză pentru bărci pe un canal scoțian, s-a întâmplat un accident. O funie s-a rupt și o barcă de canal s-a oprit brusc, dar unda de prora pe care o provocase barja a continuat să meargă. Russell a galopat de-a lungul canalului și a urmat unda timp de câțiva kilometri. El a descris stabilitatea excepțională și auto-organizarea automată a acestui tip de undă. Expresiile matematice ale undelor solitare pot fi date ca soluții particulare ale unor ecuații neliniare care descriu propagarea excitațiilor în medii continue care au atât proprietăți dispersive, cât și neliniare. Aceste soluții de undă solitară au caracteristici "asemănătoare particulelor", cum ar fi conservarea formei și vitezei. Astfel de trăsături i-au determinat pe Zabusky și Kruskal (1965) să le descrie ca "solitoni". Ca răspuns la problema transferului spațial de energie (și informații) în sistemele biologice, Davydov a aplicat conceptul de soliton sistemelor biologice în general și vibrațiilor amidei 1 în interiorul alfa-helixurilor în special. Pentru ca solitonii să existe pentru perioade utile de timp și distanță, trebuie îndeplinite anumite condiții. Cuplajul neliniar dintre vibrațiile legăturii amidei 1 și undele sonore trebuie să fie suficient de puternic și vibrațiile amidei 1 să fie suficient de energetice pentru ca interacțiunea retroactivă să se mențină. Sub acest prag de cuplare, un soliton nu se poate forma, iar comportamentul dinamic va fi esențial linear; peste prag, solitonul este un mecanism posibil pentru transducția de energie practic fără pierderi.

Simularea și calculul computerizat al solitonilor au condus la ipoteze cu privire la parametrii necesari pentru neliniaritate și propagarea solitonilor. Un parametru critic este "anarmonicitatea" sau neliniaritatea cuplării excitațiilor intrapeptidice cu deplasarea din pozițiile de echilibru (Figura 6.5). Anarmonicitatea este calitatea neliniară care determină auto-capturarea celor două componente ale solitonului. Gradul în care perturbarea electronică se cuplează neliniar cu schimbarea conformațională mecanică a structurii proteice este esența problemei solitonului. Dacă cele două sunt cuplate ca un comutator funcțional asemănător unui pas (neliniar) mai degrabă decât o corelație liniară directă, ele pot oferi un "gran" pentru a reprezenta entități discrete capabile să reprezinte și să transfere informații. Un indice pentru viabilitatea solitonului, parametrul de anarmonicitate, este cunoscut sub numele de **x**. Pentru **x** mai mare decât $0{,}3 \times 10^{-11}$ newtoni, solitonii din simularea computerizată se propagă prin coloanele vertebrale ale unei elice alfa la o viteză de aproximativ $1{,}3 \times 10^{3}$ metri pe secundă. Distanța de 170 de nanometri corespunzătoare lungimii unui cap de miozină într-un mușchi striat ar fi atunci traversată de un soliton în aproximativ 0,13 nanosecunde. Simulările computerizate realizate de Eilbeck și Scott (1979) demonstrează, pentru valorile de peste prag pentru parametrul de cuplare **x**, excitații asemănătoare solitonilor care se propagă de-a lungul coloanelor vertebrale ale elicelor alfa sub forma unui impuls local cu o dimensiune de câteva grupuri peptidice. Datele experimentale care susțin astfel de solitoni biologici apar încet. Deși rezultatele din împrăștierea luminii biomoleculare (Webb, 1980) păreau să ofere confirmare (Lomdahl et al., 1982), lucrările ulterioare (Layne, et al., 1985) au indicat o altă sursă a observațiilor experimentale. Experimentele optice pe acetanilidă cristalină (un cristal polipeptidic cu legături de hidrogen) oferă totuși o demonstrație fără echivoc a unei stări localizate similare cu cea discutată de Davydov (Careri, et al., 1984; Eilbeck, et al., 1984; Scott, et al., 1985; Scott, 1985). Rezoluția definitivă a existenței solitonilor în materiale biologice poate aștepta apariția iminentă a nanotehnologiei (Capitolul 10).

Davydov a luat în considerare și alte tipuri de solitoni, cum ar fi cei din cristale solide tridimensionale care au tranziții de fază. El susține că anarmonicitatea suficientă în aceste structuri de rețea va produce excitații de tip soliton care se reprezintă ca deplasări locale ale pozițiilor de echilibru care se mișcă de-a lungul lanțurilor moleculare. Aceștia sunt numiți solitoni acustici. Alți solitoni "topologici" sunt descriși ca "kinks" de simetrie care călătoresc printr-un mediu ordonat.

Toda (1979) a invocat conceptul de solitoni pentru a descrie deplasările locale din pozițiile

de echilibru ale moleculelor în rețelele unidimensionale. El a studiat lanțurile moleculare și a presupus că deplasarea moleculelor individuale în lanț interacționează cu moleculele învecinate. Evaluarea matematică a rețelelor Toda de către Davydov arată excitații localizate descrise de o funcție în formă de clopot care caracterizează o reducere a distanței dintre molecule în regiunea de excitație a rețelei. Aceștia sunt numiți "solitoni acustici supersound" sau "solitoni de rețea" și au fost modelați în proteine de Bolterauer, Henkel și Opper (1986).

Lucrarea lui Davydov sugerează în continuare că excesul de electroni poate fi capturat de solitoni acustici supersound și transportat împreună cu ei, dând naștere la "electrosolitoni". Transferul de electroni între perechile donor-acceptor de proteine se găsește în fotosinteză, respirația celulară (generarea de ATP) și activitatea anumitor enzime. Aceste aranjamente de structuri sunt adesea numite lanțuri de transport de electroni. Davydov observă că transferul de electroni a fost considerat în mod tradițional ca fiind realizat prin tunelare mecanică cuantică, așa cum a fost propus inițial de Britton Chance și colegii (Devault, Parkas, Chance, 1967). În aceste sisteme, electronii sunt, în general, transferați între centre distanțate la aproximativ 3-7 nanometri. Davydov argumentează că acest transfer de electroni poate fi explicat mai bine de un electrosoliton.

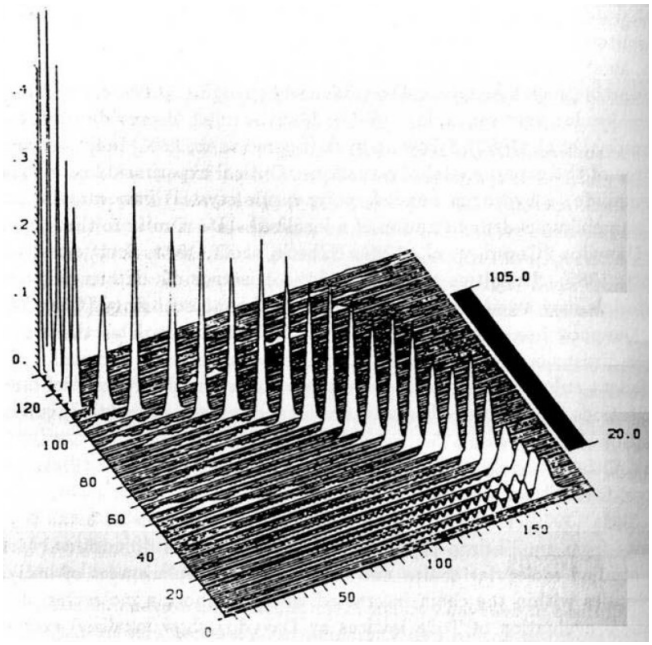


*Fig. 6.5: Simulare computerizată care arată localizarea energiei (axa verticală) de-a lungul distanței (axa de la sud-vest la nord-est) ca funcție de anarmonicitate (axa de la sud-est la nord-vest). Pe o anumită distanță, energia se localizează și călătorește ca undă solitară sau soliton. Cu permisiunea lui Bolterauer, Henkel și Opper (1986).*

Există dovezi concrete pentru solitoni ca valuri uriașe în sau sub ocean, ca solitoni optici în fibra optică laser și în alte sisteme. Tehnologiile actuale sunt incapabile să dovedească sau să infirme existența solitonilor biologici. Dacă Davydov are dreptate în ceea ce privește capetele de miozină, atunci solitonii sunt responsabili pentru contracțiile filamentoase la nivel molecular care determină fiecare mișcare pe care o facem. Propagarea solitonilor în citoschelet ar putea fi mediul dinamic al procesării informațiilor biologice. Dacă este așa, solitonii ar fi pentru conștiință ceea ce electricitatea este pentru computere.

## 6.8 Excitații coerente /Frohlich

Stările conformaționale ale proteinelor pot înregistra informații biologice dinamice și pot controla funcțiile în timp real ale citoplasmei. Mecanismele de reglare conformațională nu sunt clar înțelese, în primul rând pentru că tehnologia nu a ajuns (chiar) încă la scara nanometrică. Proteinele sunt în mod clar structuri vibrante și dinamice în condiții fiziologice. O varietate de tehnici recente (rezonanță magnetică nucleară, difracție de raze X, depolarizare prin fluorescență, spectroscopie în

infraroșu, împrăștiere laser Raman și Brillouin) au arătat că proteinele și părțile lor componente suferă mișcări conformaționale pe o gamă de scări de timp de la femtosecunde ($10^{-15}$ sec) la multe minute.

Cele mai semnificative vibrații conformaționale sunt sugerate de Karplus și McCammon (1984) de la Harvard să fie în mijlocul acestei game: nanosecunde. Astfel de fluctuații sunt adecvate pentru mișcarea conformațională a proteinelor globulare (cu diametrul de 4 până la 10 nanometri), în concordanță cu ratele de reacție enzimatică și "moduri cuplate" precum solitoni. Ca exemplu, Karplus și McCammon descriu o rotație a unui inel de tirozină adânc în interiorul unei proteine globulare numită inhibitorul pancreatic de tripsină bovină. Lanțul lateral al aminoacidului tirozină include un inel hexagonal "aromatic" cu șase atomi de carbon, cu un nor de rezonanță electronică. Rotația inelului a fost studiată experimental prin rezonanță magnetică nucleară, iar Karplus și McCammon au realizat o simulare pe calculator bazată pe acele date, care arată proteina schimbându-și starea conformațională pe măsură ce inelul de tirozină se rotește cu 90 de grade. Comutarea are loc la scara de timp de nanosecunde și este cuplată colectiv la mișcarea lanțului de bază al polipeptidei.

Stările conformaționale colective de nanosecunde au fost țesute elegant într-o teorie a excitărilor proteice coerente de către profesorul Herbert Fröhlich, care își împarte în prezent timpul între Universitatea din Liverpool și Institutul Max Planck din Stuttgart. Recunoscut ca un contribuitor major la teoria modernă a superconductivității, Fröhlich s-a îndreptat spre studiul biologiei la sfârșitul anilor 1960 și a ajuns la câteva concluzii profunde. Una este că schimbările în conformația proteinelor la scara de timp de nanosecunde sunt declanșate de o redistribuire a sarcinii, cum ar fi o oscilație dipolară în regiunile hidrofobe ale proteinelor (Fröhlich, 1975). Un alt concept al lui Fröhlich (1970) este că un set de proteine conectate într-un câmp de gradient de tensiune comun, cum ar fi în interiorul unei membrane sau al unui electret polimeric, cum ar fi citoscheletul, ar oscila coherent la o periodicitate de nanosecunde dacă s-ar furniza energie, cum ar fi ATP biochimic. Modelul de coerență al lui Fröhlich poate explica efectele cooperative pe distanțe lungi prin care proteinele și acizii nucleici din sistemele biologice pot comunica. O componentă majoră a teoriei lui Fröhlich sugerează că furnizarea aleatoare de energie unui sistem de dipoli cuplați neliniar poate duce la excitarea coerentă a unui singur mod vibrațional, cu condiția ca energia să depășească un prag critic. Frecvențele de ordinul $10^9$ până la $10^{11}$ Hz sunt sugerate de Fröhlich, care susține că modul unic apare deoarece toate celelalte sunt în echilibru termic. Consecințe biologice de mare amploare pot fi așteptate de la astfel de excitări coerente și cooperativitate pe distanțe lungi.

Conformațiile proteinelor și momentele lor dipolare în mediul apos, fiziologic sunt dominate de interacțiunea grupurilor lor de sarcină cu apa și ionii din jur. Unele biomolecule pot poseda stări excitate cu momente dipolare foarte mari. Aceste niveluri, conform lui Fröhlich, tind să devină stabilizate (devin „stări metastabile”) prin deformări interne și externe și prin deplasarea ionilor „contra” precum calciu. Stările metastabile, care se corelează cu conformațiile funcționale, sunt astfel efecte colective care implică molecula și mediul înconjurător. O moleculă ar putea fi ridicată într-o stare metastabilă prin acțiunea câmpurilor electrice, legarea liganzilor sau neurotransmițătorilor sau efectele proteinelor vecine. Astfel, oscilațiile rapide, de nanosecunde, pot fi „blocate” în moduri specifice care corespund conformațiilor utile ale unei proteine. De exemplu, un canal ionic, un receptor, o enzimă sau o subunitate de tubulină pot rămâne într-o stare conformațională pentru perioade relativ lungi, de ordinul milisecundelor. Fröhlich caracterizează aceste conformații ca stări „metastabile”.

Fröhlich observă că câmpul electric ridicat de ordinul a $10^7$ volți pe metru menținut în multe membrane biologice (100 milivolți / 10 nanometri = $10^7$ volți/metru) necesită o proprietate dielectrică extraordinară a componentelor membranei, inclusiv lipidele și proteinele. Cerințe similare ar exista pentru proteinele cito-scheletice într-un *electret*. Materialul obișnuit ar suferi o defecțiune dielectrică în astfel de câmpuri, cu excepția cazului în care este preparat special. Fröhlich susține că evoluția biologică a acestei rezistențe dielectrice la scară moleculară trebuie să aibă o semnificație puternică. Organismele biologice sunt relativ impermeabile la efectele radiațiilor

electromagnetice, dar pot fi extrem de sensibile la acestea în anumite circumstanţe. Unele funcţii biologice se învecinează cu limita impusă de mecanica cuantică. Ochii noştri sunt sensibili la fotoni unici, iar anumiţi peşti sunt sensibili la câmpuri electrice extrem de slabe. Astfel de performanţe, conform lui Fröhlich, necesită utilizarea proprietăţilor colective ale ansamblurilor de biomolecule şi ar trebui aşteptate anumite tipuri de comportament colectiv, cum ar fi vibraţiile coerente.

Dacă oscilaţiile coerente care reprezintă vibraţiile dipolare în cadrul sistemelor moleculare oscilează coerent în intervalul de la $10^9$ la $10^{11}$ Hz, ar trebui să fie posibilă excitarea acestor moduri prin radiaţii electromagnetice. Pentru a cupla şi a excita vibraţiile biologice, radiaţia ar trebui să fie potrivită frecvenţei biologice, iar lungimea de undă ar trebui să fie mare în comparaţie cu dimensiunea obiectului oscilant. O cantitate semnificativă de dovezi susţine această noţiune. Iradierea unei mari varietăţi de obiecte biologice cu unde milimetrice coerente în regiunea de frecvenţă de 0,5 x $10^{11}$ Hz poate exercita influenţe mari asupra activităţilor biologice, cu condiţia ca sursa de alimentare să se afle deasupra unui prag critic (Grundler şi Keilman, 1983). Potrivit lui Fröhlich, efectele biologice nu sunt efecte de temperatură. Ele arată rezonanţe de frecvenţă foarte ascuţite, ceea ce indică faptul că absorbţia localizată în regiuni spaţiale foarte mici contribuie la acţiunile biologice.

Rezonanţa ascuţită a acestei ferestre sensibile are o lăţime de frecvenţă de aproximativ 2 x $10^8$ Hz. Stratul de apă ordonată şi ioni subiacent membranelor şi structurilor citoscheletice (”stratul Debye”) absoarbe în regiunea de $10^8$ Hz. Aceasta sugerează că stratul Debye este strâns implicat în activităţile funcţionale dinamice ale biostructurilor pe care le înconjoară. Green şi Triffet (1985) au modelat undele de propagare şi potenţialul de transfer de informaţii în dinamica stratului Debye imediat sub membrane şi proteinele citoscheletice. Ei au emis ipoteza unui mediu informaţional holografic datorită vibraţiilor coerente în spaţiu şi timp ale acestor biomolecule. Mediul pe care îl consideră este apa ordonată şi straturile de contraioni de calciu care înconjoară momentele dipolare mari din membrane şi biomolecule. Astfel, ei au dezvoltat o teorie a bioplasmei ionice în legătură cu proprietăţile neliniare care se referă la existenţa stărilor metastabile foarte polare. Scara mică şi ordonarea ar minimiza frecarea în aceste activităţi. Fröhlich observă: „în mod clar, absenţa altor procese de frecare ar prezenta cele mai interesante probleme”. El sugerează posibilitatea propagării undelor datorită lipsei proceselor de frecare („superconductivitate”) însuşi biomoleculei, precum şi în stratul de apă ordonată sau stratul Debye (Kuntz şi Kauzmann, 1974). Până de curând, superconductivitatea a fost considerată a avea loc numai în anumite materiale ordonate la temperaturi apropiate de zero absolut. Descoperirile recente, totuşi, au arătat că superconductivitatea poate apărea în materiale la temperaturi mai ridicate, aparent datorită ordonării coerente şi cuplării între vibraţiile de reţea localizate şi colective (Maddox, 1987; Robinson, 1987).

Extinzând lucrarea lui Fröhlich, Wu şi Austin (1978) concluzionează că dipolii oscilanţi într-o bandă îngustă de frecvenţe de rezonanţă, cu constante de cuplare suficient de mari, pot fi de aşteptat să provoace forţe atractive puternice pe rază lungă (aproximativ 1 micron) între dipoli. Într-o matrice densă de microtubuli, 1 micron cub (un miliard de nanometri cubi) ar cuprinde aproximativ 160.000 de subunităţi de tubulină - o matrice suficient de mare pentru efecte colective.

Dovezi ale unor astfel de efecte de "rază lungă" au fost observate în comportamentul globulelor roşii. Discoizi cu diametrul de opt microni (8 mii nanometri), globulele roşii tind să se dispună în stive numite "formare Rouleaux". Rowlands (1983) a studiat formarea Rouleaux şi a constatat că forţele de atracţie încep atunci când celulele roşii sunt la o distanţă de aproximativ patru microni (4 mii nanometri), o distanţă cu câteva ordine de mărime mai mare decât intervalul forţelor chimice de atracţie. Rowlands consideră că acest comportament este în concordanţă cu excitaţiile coerente ale lui Fröhlich şi cu cooperativitatea pe distanţe lungi. Rowlands proiectează, de asemenea, semnificaţia teoriei lui Fröhlich pentru comunicarea în sistemul nervos. Rowlands (1983) observă că

> O bandă de comunicare care se întinde de la $10^{10}$ la $10^{11}$ Hz ... ar putea conţine peste un milion de posturi de radio FM ... sau 150 000 de emisiuni de televiziune ... potenţialul de acţiune ar putea fi doar un transmiţător rapid brut de mesaje urgente ... . Vibraţiile Fröhlich

ar putea fi transmise de-a lungul membranei fibrelor nervoase, dar ele ar fi întrerupte de potențialele de acțiune. Este mai probabil ca microtubulii din axon să fie utilizați.

## 6.9 Bosoni fără masă, autofocalizare citoscheletală

Complexitatea sistemelor biologice a atras interesul non-biologilor care posedă instrumente matematice utile pentru „probleme cu multe corpuri”. Pe lângă Fröhlich, aceştia includ un grup de oameni de ştiinţă de la Universitatea din Milano (Del Giudice, Doglia, Milani şi Vitiello, 1986). Considerând materia vie ca o mare de dipoli electrici, ei au profitat de instrumentele matematice şi de calculator utilizate pentru a urmări nenumăratele particule implicate în reacţiile nucleare. Folosind o abordare matematică numită teoria cuantică a câmpului, grupul de la Milano consideră stările electret şi ordonarea ulterioară a apei în jurul biomoleculelor ca seturi de dipoli ale căror stări, ordine şi simetrie au proprietăţi colective. Într-un sistem non-biologic tipic, dipolii componenţi sunt aleatorii şi dezordonaţi, rezultând o simetrie generală.

Un astfel de sistem ar arăta la fel atunci când este privit din orice unghi („invariant la rotaţie”). În sistemele vii, ordinea este indusă prin reducerea simetriei tridimensionale la o aliniere rotaţională de-a lungul electreţilor filamentoşi, cum ar fi structurile citoscheletice. Conform grupului de la Milano, teoria cuantică a câmpului şi „teorema Goldstone” impun ca ruperea simetriei („condensarea Bose”) să ducă la interacţiuni pe distanţe lungi între componentele sistemului (dipoli) transmise de particule/unde fără masă („bosonii Goldstone”). Grupul de la Milano argumentează că energia necesară pentru a genera bosoni fără masă este investită în stările *electret* ale biomoleculelor şi în fluctuaţiile corelate ale apei şi ionilor din jur.

Celaschi şi Mascarenhas (1977) au arătat că energia de activare a electreţilor biomoleculelor (0,2-0,4 electroni-volţi) este echivalentă cu hidroliza unei molecule ATP sau GTP şi cu ceea ce Davydov a prezis pentru iniţierea solitonilor. În consecinţă, solitonii, bosonii fără masă şi undele de polarizare coerentă ale lui Frolich pot fi sinonime.

Urmărind abordarea lor în domeniul teoriei câmpurilor cuantice, Del Giudice şi colegii săi au ajuns la un concept uimitor de autofocalizare a energiei electromagnetice în filamentele cito scheletice. Energia electromagnetică ce depăşeşte un prag şi pătrunde în citoplasmă ar fi limitată în interiorul filamentelor ale căror diametre depind de ruperea iniţială a simetriei („condensare Bose") a dipolilor ordonaţi. Orice perturbare electrică produsă de dipoli fluctuanţi termic sau de orice altă sursă ar fi limitată în interiorul regiunilor filamentare. Ordonarea este păstrată în afara filamentelor şi este perturbată doar în interiorul acestora, unde energia devine concentrată (efectul „Meissner"). Diametrul filamentelor de energie autofocalizată depinde de densitatea de polarizare sau de ordonarea apei biologice. Grupul lui Del Guidice a calculat un diametru de autofocalizare de aproximativ 15 nanometri, tocmai diametrul interior al microtubulilor! Del Guidice şi colegii săi consideră că citoscheletul este consecinţa materială a autofocalizării dinamice a undelor de polarizare în citoplasmă. Diametrele observate ale fasciculelor optice autofocalizate în lichide non-biologice simple sunt de ordinul micronilor; corelaţia dintre componente este creată prin propagarea undelor, mai degrabă decât ca o proprietate specifică a materialului în sine.

Grupul de la Milano concluzionează că focalizarea are loc în citoplasma celulelor eucariote datorită coerenţei spaţiale şi ordonării conferite de comportamentul *electret* al citoscheletului. Autofocalizarea prezisă de grupul de la Milano ar avea capacităţi interesante. Energia este refracţionată în fascicule care devin înconjurate de ghiduri de undă cilindrice: trucul cu frânghia indiană. Coerenţa conferită energiei refracţionate, fie printr-un mecanism de tip Fröhlich, fie prin structura periodică a unei biomolecule de ghid de undă citoscheletică, ar putea duce la mecanisme holografice. A fost descrisă o teorie rudimentară a comportamentului ghidului de undă/holografic în microtubuli (Hameroff, 1974). Cristalele fotorefractive pot fi folosite pentru a genera holografie dinamică, în timp real (Gower, 1985) şi MT ar putea proiecta holograme citoplasmatice dinamice.

Modelele dinamicii cooperative a proteinelor descrise de solitoni Davydov sau oscilaţiile coerente Fröhlich pot fi perspective diferite ale aceloraşi fenomene. Tuszynski şi colaboratorii (1984) au comparat cele două abordări şi accentul lor respectiv. Aceştia au observat că modelul lui Fröhlich se concentrează pe efectele independente de timp, sau stările stabile, pentru a explica

stabilirea ordinii, în timp ce modelul lui Davydov evidențiază propagarea dependentă de timp a ordinii prin intermediul solitonilor.

Modelele cooperative suprapuse ale dinamicii conformaționale a proteinelor (coerență, rezonanță, solitoni, electreți, autofocalizare) prezintă interes atunci când sunt aplicate la elemente structurale specifice cu proprietăți relevante. De exemplu, modelul lui Davydov de propagare a solitonilor a fost aplicat inițial la cuplarea contractilă dintre actină și miozină. Citoscheletul pare deosebit de potrivit pentru a profita de dinamica de cooperare legată de procesarea informațiilor. Capitolul 8 analizează dovezile și modelele de procesare a informațiilor citoscheletale bazate pe dinamica cooperativă. Următorul capitol descrie anestezia - rezultatul inhibării dinamicii conformaționale colective și cooperative a proteinelor în creier.

# 7. Anestezia: O altă latură a conștiinței

Efectul colectiv net al dinamicii proteinelor și al altor factori din creierul uman este conștiința. Încă de pe vremea vechilor sumerieni, egipteni, asirieni și greci, derivatele opiacee ale macului (*Papaver somniferum*) și alte medicamente au fost utilizate pentru a obtuza sau *abla* conștiința în fața durerii sau pentru procedurile chirurgicale. În secolul al XIX-lea, au fost dezvoltate gazele anestezice, inclusiv protoxidul de azot ("gazul râsului") și eterul dietilic. Aceste anestezice prin inhalare, atunci când erau administrate corect într-un interval îngust de concentrații, erau capabile să provoace o încetare reversibilă a conștiinței. După cum au descoperit în mod tragic anesteziștii timpurii, excesul de anestezic provoca respirație inadecvată, insuficiență cardiovasculară și deces. Cu toate acestea, atunci când a fost utilizată corect, anestezia a devenit o binefacere pentru omenire. Pe lângă alinarea suferinței nenumăraților pacienți chirurgicali, anestezicele au devenit, de asemenea, un instrument important în investigarea conștiinței. Un traseu de experimente și observații a condus la concluzia că anestezicele inhibă modificările conformaționale dinamice colective ale proteinelor cerebrale.

## 7.1 Nivelurile de anestezie/conștiență

Odată cu apariția pe scară largă a eterului dietilic, anestezia a devenit oarecum standardizată și a devenit utilă delimitarea „etapelor” în continuumul de la starea de veghe la paralizie respiratorie, colaps cardiovascular și moarte, trecând prin anestezie. În 1847, John Snow a publicat monografia sa de pionierat, *On the Inhalation of the Vapour of Ether* (Despre inhalarea vaporilor de eter), în care a descris cinci niveluri empirice prin care un pacient anesteziat progresează de la starea de conștiință la paralizia respiratorie. Operația putea fi efectuată în „stadiul trei”, caracterizat prin analgezie (ameliorarea durerii) și amnezie (lipsa stocării memoriei), sau în „stadiul patru”, caracterizat prin relaxare musculară și respirație regulată, automată. Schema lui Snow a fost extinsă în 1920 de Arthur Guedel, care a publicat stadiile și semnele codificate ale anesteziei, detaliate ulterior în monografia sa din 1937, *On Inhalation Anesthesia - A Fundamental Guide*. Guedel și-a fundamentat etapele pe semne fizice evidente care implică tonusul muscular, tiparele respiratorii și semnele oculare. El a enumerat patru niveluri: stadiul de analgezie, stadiul de delir, stadiul chirurgical (subdivizat în patru planuri) și stadiul de paralizie respiratorie. Alții au adăugat o a cincea etapă, supradozajul anestezic: lipsa de oxigen tisular, convulsii și moarte iminentă.

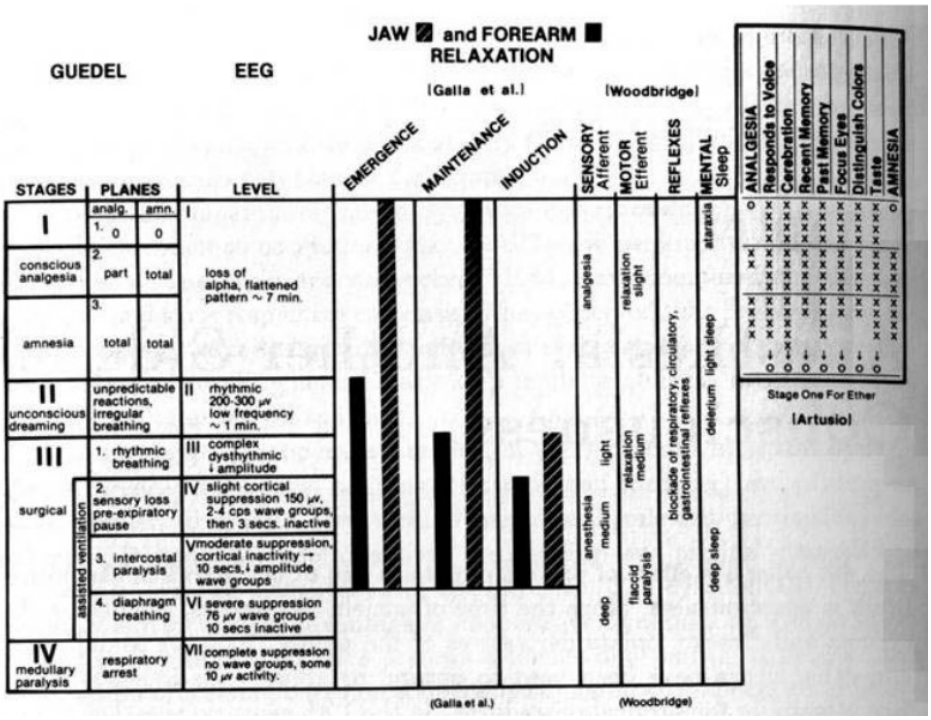

*Fig. 7.1: Nivelurile de profunzime anestezică din diferite sisteme afișate pe o axă comună. Etapele și planurile lui Guedel (1937) servesc drept standard. Sunt reprezentate, de asemenea, nivelurile EEG (Courtin, Bickford și Faulconer, 1950), relaxarea maxilarului și a antebraţului (Galla, Rocco și Vandam, 1958), clasificarea nothriei a lui Woodbridge (1957) și primul stadiu pentru eter (Artusio, 1955). Cu permisiunea lui Grantham și Hameroff (1985).*

În stadiul unu al lui Guedel (Figura 7.1), pacientul progresează de la alertă și sensibilitate la durere la amnezie totală, analgezie și sedare. Respiraţia este lentă și regulată, cu utilizarea atât a mușchilor diafragmatici, cât și a coastelor; reflexul palpebral (tresărirea pleoapelor ca răspuns la o periere ușoară) este intact. Stadiul doi a fost denumit în mod diferit stadiul de delir, excitaţie, inconștienţă sau "starea de vis". Pacientul poate trece prin această etapă calm sau poate manifesta o activitate sălbatică, neinhibată. Respiraţia este neregulată și imprevizibilă, pupilele ochilor se pot dilata, mușchii oculari sunt activi, iar reflexul palpebral este activ. În această etapă, pacientul este expus riscului de activitate reflexă nedorită, cum ar fi vărsături, spasm al căilor respiratorii și disritmii cardiace. Faza de excitaţie din stadiul doi, cauzată de anestezice, este oarecum derutantă. Explicaţiile timpurii descriau inhibarea circuitelor cerebrale "inhibitoare" neocorticale, ceea ce ducea la o activitate primitivă necontrolată. Cu toate acestea, efectele anestezice asupra neuronilor individuali pot arăta, de asemenea, o fază de excitaţie, astfel încât "excitaţia" indusă de anestezice poate fi un efect la nivel molecular la concentraţii mici. Stadiul trei al lui Guedel are patru "planuri" diferite de anestezie progresiv mai profundă în timpul cărora poate fi efectuată intervenţia chirurgicală. Relaxarea musculară este ușoară în planul unu, dar progresează spre relaxarea completă a mușchilor abdominali în planurile trei și patru. Respiraţia este foarte neregulată și periodică în planul unu, ca în somnul normal. Cu planul doi, se dezvoltă o pauză între inhalare și expiraţie, iar inhalarea devine mai scurtă în raport cu expiraţia. Paralizia mușchilor coastelor începe în planul trei, iar respiraţia diafragmatică este proeminentă. În planul patru, are loc o mișcare paradoxală a cutiei toracice la inhalare, respiraţia este neregulată și, dacă profunzimea anesteziei nu este redusă, respiraţia se va opri complet. Mușchii oculari sunt activi inițial în planul unu, însă ochii devin imobili când se ajunge la planul doi. Reflexul palpebral dispare în planul trei. Pupilele tind să se dilate odată cu progresia spre planul patru. Al patrulea stadiu de anestezie este oprirea respiratorie și colapsul cardiovascular ulterior. Mușchii sunt flasci, iar pupilele sunt largi dilatate. Moartea va surveni dacă profunzimea anesteziei nu este redusă din stadiul patru (Grantham și Hameroff, 1985).

Din cauza riscurilor de supradozaj anestezic și a cerinţelor variabile ale pacienţilor individuali, anestezistii au căutat metode pentru a judeca profunzimea anesteziei, pe lângă semnele clinice enumerate de Snow și Guedel. De la începutul secolului al XX-lea, electroencefalografia (EEG) a fost înregistrată de la pacienții anesteziați. Undele EEG înregistrate la nivelul scalpului sunt considerate a emana din potențialele sinaptice dendritice sumate ("câmpuri dipolare") generate de celulele piramidale ale cortexului cerebral. Potențialele scalpului variază, în general, de la 10 la 200 microvolți, iar frecvențele variază de la câțiva Hz la aproximativ 50 Hz. Spectrul de frecvențe al EEG este, de obicei, împărțit în 4 clasificări majore: delta: mai puțin de 4 Hz, theta: 4—8 Hz, alfa: 8-13 Hz și beta: mai mare de 13 Hz. În general, puterea la frecvențe mai mari scade pe măsură ce profunzimea anesteziei crește. În consecință, eforturile de a obține un indice adecvat al profunzimii anesteziei au inclus încercări de a cuantifica o frecvență EEG sub care apare cea mai mare parte a puterii EEG. Aceasta implică o transformare Fourier a datelor EEG brute într-un spectru de frecvență/putere. Un exemplu este "marginea spectrală", frecvența sub care apare 95% din puterea EEG (Rampil, 1981). Pe măsură ce profunzimea anesteziei crește, marginea spectrală scade aproximativ. Alte încercări de a evalua cantitativ EEG și profunzimea anesteziei au inclus trasarea tensiunii EEG în "spațiul fazei", obținând portrete de fază și atractori haotici. Trasarea spațiului fazei implică alegerea unui "decalaj de fază" arbitrar și trasarea amplitudinii EEG în orice moment în timp față de amplitudinea în acel moment particular plus decalajul de fază. Aceasta are ca rezultat portrete de fază geometrice care pot fi analizate pentru complexitate sau "dimensionalitate" pe un continuum de ordine și haos. Pe măsură ce pacienții sunt mai anesteziați,

dimensionalitatea EEG-ului lor devine mai ordonată şi mai puţin haotică (Figurile 7.2 şi 7.3, Watt şi Hameroff, 1987). Conştiinţa poate fi astfel descrisă ca o manifestare a haosului deterministic undeva în creier/minte.

Pe lângă observarea activităţilor creierului, anesteziologii trebuie să monitorizeze îndeaproape şi alte funcţii fiziologice ale pacienţilor lor în timpul şi imediat după operaţie. Factorii cardiovasculari, pulmonari, neuromusculari, renali, coagularea sângelui şi alţii sunt urmăriţi cu atenţie. O serie de progrese tehnologice în domeniul monitorizării permit o îngrijire mai sigură a pacienţilor mai bolnavi pentru proceduri mai complexe. Monitorizarea viitoare ar putea utiliza tehnologii şi mai avansate. Un exemplu posibil este reprezentat de tranzistorii cu efect de câmp „biosenzori", care sunt cipuri minuscule acoperite cu membrane ce pot detecta o varietate de ioni, molecule, medicamente sau hormoni. Suficient de mici pentru a încăpea pe vârful unui mic cateter introdus inofensiv într-un vas de sânge sau ţesut, aceşti biosenzori conectaţi la un computer pot permite monitorizarea „on-line" a chimiei sângelui şi a multor alte funcţii. Odată cu apariţia nanotehnologiei, se vor materializa biosenzori şi mai mici, şi mai profund sensibili. Capacitatea de monitorizare a dinamicii conformaţionale la scară nanometrică a proteinelor neuronale (prin telemetrie sau prin implanturi foarte mici) va conduce nu numai la observarea mai sensibilă a funcţiilor creierului în timpul anesteziei şi al intervenţiilor chirurgicale, ci poate, în cele din urmă, la manipularea conştiinţei.

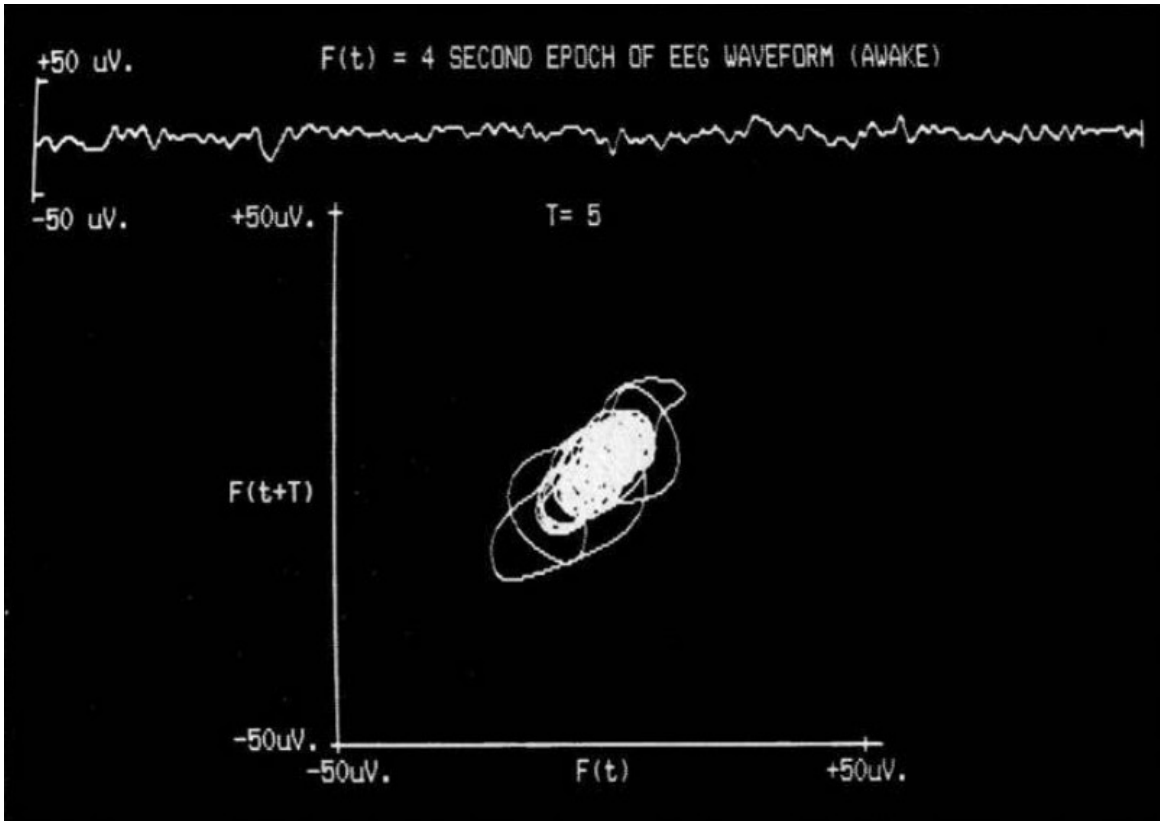


*Fig. 7.2: EEG de la un pacient treaz înainte de anestezie. Sus: 4 secunde de EEG "convenţional" care prezintă unde de joasă tensiune şi înaltă frecvenţă. Jos: aceleaşi 4 secunde reprezentate ca traiectorie în spaţiul fazelor cu digitizare de 300 Hz şi decalaj de fază de 5/300 sec. Portretul de fază al stării de veghe este dens centrat. De la Watt şi Hameroff (1987).*

## 7.2. Memorie

Ocazional, pacienţii au raportat conştientizarea sau reamintirea în timpul anesteziei, un eveniment abominabil atât pentru pacient, cât şi pentru anestezist. Cercetările în acest domeniu au luminat mecanismele de consolidare a memoriei şi au condus la medicamente anestezice specifice

care produc amnezie. În consecință, conștientizarea și reamintirea în timpul anesteziei sunt în prezent extrem de rare. Într-o analiză excelentă a anesteziei și a proceselor de memorie, Cherkin și Harroun (1971) au descris o teorie a memoriei în două etape, conform căreia informațiile sunt mai întâi percepute și stocate într-o formă dinamică instabilă (memorie pe termen scurt), care poate fi apoi consolidată într-o urmă de memorie fizică stabilă (memorie pe termen lung).

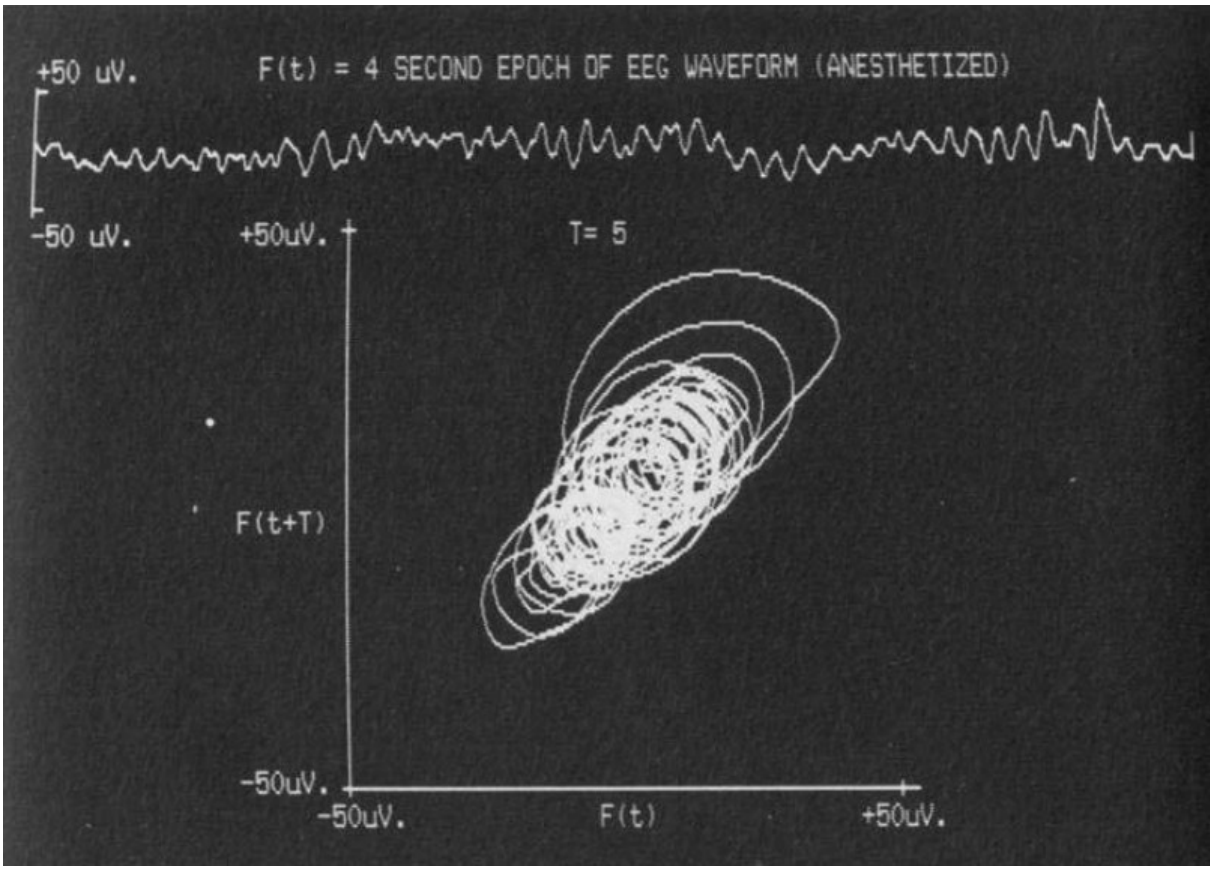


*Fig. 7.3: EEG de la un pacient după inducerea anesteziei generale cu tiopental și izofluran. În partea de sus: 4 secunde de EEG convențional prezintă unde cu tensiune mai mare și frecvență mai mică. Jos: aceleași 4 secunde reprezentate ca traiectorie de fază ca în figura 7.2. Portretul de fază al pacientului anesteziat este dezvăluit cu un contur geometric mai „flexibil", asemănător unui „atractor" Analiza dimensională relevă un portret de fază mai puțin «haotic» și mai „ordonat" în starea de anestezie comparativ cu starea de veghe. De la Watt și Hameroff (1987).*

Percepția și stocarea în memoria pe termen scurt pot constitui conștientizarea, dar nu provoacă neapărat un răspuns fiziologic sau nu devin memorie pe termen lung pentru a produce o reamintire postoperatorie.

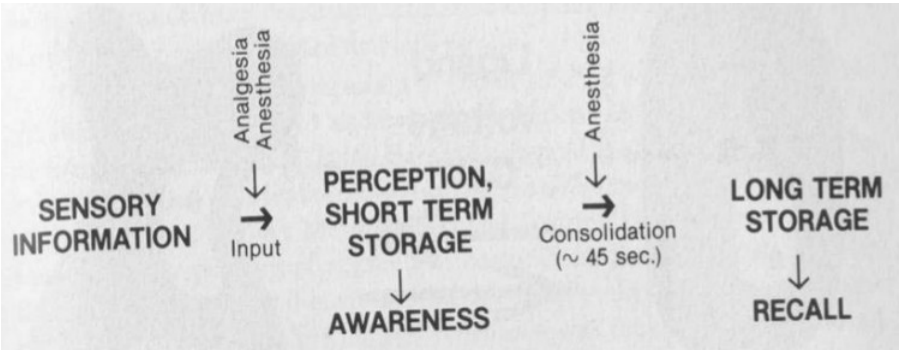


*Fig. 7.4: Informațiile senzoriale pot fi percepute și pot înregistra memoria și conștientizarea pe termen scurt. O a doua etapă care durează o perioadă finită de timp are ca rezultat stocarea și reamintirea în memoria pe termen lung. Modificat după Cherkin și Harroun (1971).*

Consolidarea memoriei pe termen scurt în memoria pe termen lung pare să dureze o perioadă finită de timp, de ordinul a 45 de secunde (figura 7.4). Stabilirea urmelor de memorie pe termen lung depinde în mare măsură de impactul inițial al informațiilor introduse. Mulți dintre noi, care suntem destul de în vârstă, ne putem aminti exact unde ne aflam atunci când președintele Kennedy a fost împușcat. În mod similar, remarcile amenințătoare sau deranjante au mai multe șanse de a fi auzite și consolidate în memoria pe termen lung și de a fi reamintite la pacienții parțial anesteziați (Bitnar, 1983). Amnezia (lipsa reamintirii) rezultă din împiedicarea consolidării memoriei în orice punct de la intrare la stocarea memoriei pe termen lung. Medicamentele anestezice pot acționa în diferite etape ale acestui proces: analgezicele narcotice împiedică intrarea noxelor, tranchilizantele amnezice blochează consolidarea în memoria pe termen lung, anestezicele generale inhibă aceste funcții cognitive și toate celelalte. Procesul de consolidare pare să aibă loc în regiunea hipocampală a creierului, dar stocarea și conștientizarea memoriei sunt distribuite mai difuz.

## 7.3 Mecanismele anesteziei

O varietate de structuri moleculare destul de diferite au activitate anestezică. Alte molecule, destul de asemănătoare în structură cu anestezicele, pot avea efecte opuse și pot provoca convulsii. În ciuda acestor paradoxuri, au fost prezentate încercări imaginative de a unifica un mecanism unic pentru anestezie și de a reprezenta indicii pentru mecanismul conștiinței.

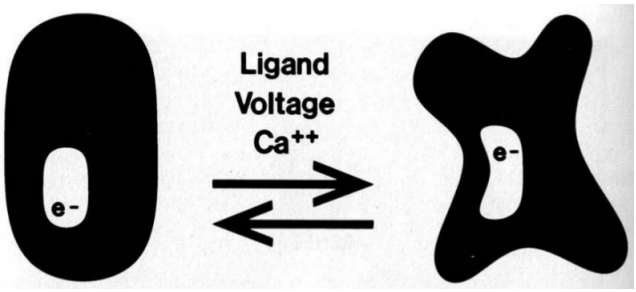


*Fig. 7.5: Anestezia rezultă din împiedicarea comutării proteinei între două sau mai multe stări conformaționale diferite induse de legarea ligandului, de ionul de calciu sau de schimbarea tensiunii. Moleculele de gaz anestezic se leagă prin forțe Van der Waals în interiorul buzunarelor hidrofobe în care oscilațiile dipolului electronic pot fi un declanșator sau un mecanism de comutare pentru conformația proteinei*.

Deși unele sunt inhibate la concentrații mai mari decât cele necesare pentru anestezie, anesteziile inhibă mai multe funcții și structuri neuronale. Propagarea potențialelor de acțiune care duce la conducerea nervoasă, precum și transportul axonal dependent de microtubuli, sunt blocate de anestezice precum halotanul, care provoacă, de asemenea, depolimerizarea MT. Cu toate acestea, funcția neuronală măsurabilă care este sensibilă la anestezice la concentrații abia suficiente pentru a șterge conștiința este transmiterea sinaptică. Eliberarea neurotransmițătorilor și/sau activarea receptorilor de neurotransmițători par, așadar, să fie acțiunile specifice a căror inhibare are ca rezultat anestezia. Inhibarea activităților comunicative colective din cadrul citoscheletului și a proteinelor de membrană atașate legate de transmiterea sinaptică este în prezent nedetectabilă cu tehnologiile actuale, iar inhibarea lor poate încă explica anestezia. Localizarea anatomică a locurilor de acțiune anestezică s-a concentrat pe regiunile cu multe sinapse. În consecință, sistemul de activare reticulară, care este implicat în reglarea stării de veghe și a atenției și este „polisynaptic”, a fost inițial considerat un loc major de efect anestezic. Cu toate acestea, multe alte regiuni ale creierului sunt inhibate de anestezice la concentrații relevante pentru anestezie. Mai mult, diferite anestezice care au același rezultat final au acțiuni dominante în zone diferite ale creierului și au caracteristici și efecte secundare diferite.

Mecanismul anesteziei, ”cealaltă parte” a conștiinței, este o enigmă fascinantă. Eforturile de a înțelege acțiunile anesteziceloor au început la mijlocul secolului al XIX-lea; Claude Bernard a

observat că anestezicul cloroform inhiba „fluxul protoplasmatic” în mucegaiul nămolului. În jurul începutului secolului al XX-lea, Meyer (1899) şi Overton (1901) au descoperit că potenţa anestezică a unui grup de compuşi corela direct cu solubilitatea lor într-un mediu lipidic, în special uleiul de măsline. Deoarece membranele sunt în mare parte lipidice, concluzia naturală a fost că anestezicele şi-au exercitat efectele prin acţiuni asupra lipidelor din membrane. Mult mai târziu s-a stabilit că efectele critice, dinamice din membrane au loc prin proteine, şi că regiunile hidrofobe din cadrul proteinelor erau „asemănătoare lipidelor” şi, prin urmare, capabile să lege molecule de gaz anestezic prin forţe slabe Van der Waals. Majoritatea teoriilor contemporane sunt de acord că anestezia rezultă din modificarea funcţiilor dinamice, conformaţionale ale proteinelor neuronale importante ale creierului: canalele ionice membranare, receptorii sinaptici, citoscheletul, mecanismele de eliberare a neurotransmiţătorilor şi/sau enzimele (Koplin şi Eger 1979; Kaufman, 1977; Eyring, Woodbury şi D'Arrigo, 1973). Opiniile şi teoriile nu sunt de acord cu privire la faptul dacă anestezicele modifică aceste funcţii dinamice ale proteinelor direct prin buzunare hidrofobe intra-proteinice, sau indirect prin lipidele membranare care înconjoară proteinele, sau la interfeţele lipid-proteină (Franks şi Lieb, 1982). Există, de asemenea, dezacorduri cu privire la faptul dacă un singur mecanism unitar poate explica acţiunile unei game largi de compuşi anestezici care acţionează asupra unei game probabil largi de proteine neuronale, precum şi explica reversibilitatea anesteziei prin creşterea presiunii şi relaţia paradoxală dintre anestezice şi convulsivante (Halsey, 1976).

Corelaţiile puterii anestezice cu solubilitatea în solvenţi "asemănători lipidelor" (ulei de măsline, octanol, lecitină) sunt consistente cu efectele anestezice care apar fie în lipide, fie în buzunare hidrofobe "asemănătoare lipidelor" din interiorul proteinelor (Eger, Lundgren, Miller şi Stevens, 1969). Wulf şi Featherstone (1957) au fost printre primii care au demonstrat legarea anestezicelor în regiunile hidrofobe ale mioglobinei de balenă şi ale altor proteine. Ei au sugerat că legarea anestezicelor a provocat o modificare conformaţională a proteinei, cu o creştere rezultată a expunerii grupurilor încărcate la suprafeţele proteinelor, care a modificat suficient funcţia proteinei pentru a provoca anestezie. Grupurile de încărcare modificate pot modifica legarea proteinei de apa de la suprafaţă şi pot explica rezultatele care i-au determinat pe Pauling (1965) şi Miller (1969) să propună că complexele apă-proteină induse de anestezice ("clatraţi") au fost cauza anesteziei. Alte cercetări, inclusiv cele ale lui Brammall, Beard şi Hulands (1974), au demonstrat că anestezicele pot provoca modificări conformaţionale în proteinele funcţionale, dar la concentraţii semnificativ mai mari decât cele necesare pentru a provoca anestezie clinică reversibilă.

O inferenţă logică este că anestezicele, mai degrabă decât să provoace modificări conformaţionale ale proteinelor, au prevenit pe cele care erau necesare pentru funcţia normală. Căutând sisteme model de activitate dinamică funcţională în proteine, un număr de cercetători s-au concentrat pe un grup aparent obscur de sisteme care, la suprafaţă, sunt îndepărtate de orice asemănare cu funcţia cognitivă: inhibarea anestezică a luminescenţei din fotoproteinele din licurici şi o varietate de bacterii (Harvey, 1915; Halsey şi Smith, 1970; White şi Dundas, 1970). Luciferaza de licurici este un dimer proteic de aproximativ 100 kilodaltoni (nu diferit de tubulină). Când este combinată cu o moleculă hidrofobă de 280 daltoni numită luciferină şi în prezenţa ATP şi oxigen, este indusă o stare de electron excitată, care are ca rezultat emisia de fotoni. Emisia de lumină din complexul luciferază/luciferină este extrem de sensibilă la gazele anestezice, proporţional cu potenţa lor anestezică. Studiind emisia de lumină de la luciferaza de licurici, Ueda (Ueda, 1965; Ueda şi Karmaya, 1973) a propus că legarea anestezicelor la un sit hidrofob din proteina luciferazei a indus o stare conformaţională inactivă, care a împiedicat starea excitată activată de ATP, care ar duce în mod normal la luminescenţă. În studii anestezice mai recente asupra luminescenţei de licurici, Franks şi Lieb (1984) au coroborat lucrările anterioare conform cărora potenţa anestezică corela cu potenţa de inhibare a luciferazei, la fel ca corelaţiile anterioare cu solubilitatea în medii hidrofobe "asemănătoare lipidelor". De asemenea, au raportat că legarea anestezicelor nu a provocat o modificare conformaţională a luciferazei şi că efectele anestezice au apărut prin legarea competitivă cu luciferina pentru un sit hidrofob în luciferază. Franks şi Lieb au sugerat că anestezia apare din cauza înlocuirii liganilor endogeni din buzunarele hidrofobe ale proteinelor neuronale

cerebrale, care au o oarecare asemănare cu situl luciferinei din interiorul luciferazei de licurici. Înlocuirea liganilor endogeni nu ar explica, totuşi, inhibarea anestezică a modificărilor conformaţionale ale proteinelor funcţionale care apar ca răspuns la stimuli diferiţi de liganzi hidrofobi (de exemplu, schimbarea de tensiune, calciu, alţi ioni).

În cele din urmă, anestezia rezultă din afectarea dinamicii conformaţionale a proteinelor. După cum se descrie în capitolul 6, mecanismele care reglează stările proteinelor nu sunt complet înţelese, dar mecanismele colective, cooperative par importante. Reglarea conformaţională a proteinelor neuronale sensibile la anestezie este rezumată schematic în figura 7.5. În condiţii normale, non-anestezice, există o clasă de proteine neuronale care suferă modificări conformaţionale funcţionale ca răspuns la stimuli corespunzători. Aceste proteine pot fi canale ionice legate de membrană care devin permeabile la ionii de sodiu, potasiu, clorură sau calciu; receptori legaţi de membrană pentru acetilcolină, acid gamma-amino butiric (GABA), glicină, aspartat, glutamat sau alţi neurotransmiţători care sunt cuplaţi la canale ionice; proteine citoscheletice care îndeplinesc o gamă largă de funcţii intracelulare dinamice; sau diverse enzime. Stimulii care induc modificarea conformaţională funcţională a acestor proteine sunt consideraţi a include legarea de liganzi (de exemplu, neurotransmiţători), modificări ale tensiunii sau ale fluxului ionic (de exemplu, ioni de calciu). Aceste modificări conformaţionale funcţionale pot facilita activitatea excitatorie neuronală sau pot avea efecte inhibitoare. Legătura sensibilă anestezică comună atât pentru efectele excitatorii, cât şi pentru cele inhibitorii pare să fie o modificare conformaţională a proteinei.

Cuplarea stărilor conformaţionale la stimuli adecvaţi nu este clar înţeleasă; posibile explicaţii au fost discutate în Capitolul 6 şi par să implice cuplarea colectivă, neliniară a mobilităţii electronice la mişcările mecanice. Mobilitatea electronică cuplată conformaţional în interiorul buzunarelor hidrofobe ale proteinelor neuronale poate fi, astfel, esenţială pentru cea mai înaltă funcţie cognitivă şi sensibilă la efectele moleculelor anestezice. Dovezile din cromatografia de gaz (McNair şi Bonelli, 1969) şi experimentele cu descărcare corona (Hameroff şi Watt, 1983) sugerează că gazele anestezice pot modifica direct energia electronilor, capturând, încetinind sau îmbunătăţind mobilitatea acestora prin forţe Van der Waals-London (cuplare dipol instantanee). Astfel, reglarea stării conformaţionale a proteinelor, aşa cum este propusă de teoria coerenţei lui Fröhlich, comportamentul *electret* sau modelul soliton al lui Davydov, ar fi inhibată direct de ocuparea anestezică a buzunarelor hidrofobe ale proteinelor, deoarece mediul ambiental pentru mobilitatea electronică ar fi modificat semnificativ. Buzunarele hidrofobe variază ca dimensiune şi formă între diferite proteine, ceea ce ar explica variabilitatea între diferite molecule de gaz anestezic. Interacţiunile slabe, reversibile Van der Waals prin care anestezicele se leagă în regiunile hidrofobe explică reversibilitatea anesteziei. Cealaltă faţă a anesteziei, conştiinţa, poate fi dedusă că apare datorită efectelor conformaţionale dinamice ale proteinelor într-o clasă distribuită de proteine neuronale cerebrale. Deoarece conştiinţa este funcţia cerebrală cea mai susceptibilă la anestezice (care pot cruţa controlul respiraţiei şi multe reflexe la concentraţii adecvate), aceasta pare legată de efectele colective ale dinamicii conformaţionale a proteinelor. Inhibarea unui subset al dinamicii colective ar inhiba, prin urmare, conştiinţa. În mod invers, excitarea unui subset specific implicat în dinamica colectivă a proteinelor ar putea duce la modificarea sau îmbunătăţirea conştiinţei.

Medicamentele psihoactive, cum ar fi amfetaminele şi LSD, pot exercita efecte profunde asupra creierului/minţii la concentraţii extrem de mici. Se crede că acestea se leagă şi îşi exercită efectele la receptorii proteinelor de membrană, cum ar fi receptorul de serotonină în cazul LSD. Kang şi Green (1970) au corelat potenţa compuşilor psihoactivi cu structura lor de legătură electronică şi orbitalii moleculari. Au constatat că energia orbitală electronică a moleculelor de medicament disponibilă receptorilor (şi membranei şi citoscheletului conectat) a fost un indice al potenţei medicamentului. Astfel, efectele colective legate de mobilitatea electronică în cadrul proteinelor cheie într-un ansamblu cooperativ pot fi importante pentru conştiinţă.

# 8. Modele de calcul citoscheletal

Efectele cooperative, colective ale stărilor conformaționale dinamice ale proteinelor sunt un substrat probabil pentru inteligența biologică, de la sondarea citoplasmatică la conștiința umană. Activitățile, funcțiile și structurile microtubulilor și ale altor componente ale citoscheletului par potrivite pentru prelucrarea informațiilor și au determinat cel puțin o duzină de grupuri de autori să publice modele teoretice de cunoaștere rudimentară în cadrul MT și al citoscheletului. Conceptele variază de la transducția pasivă a semnalului MT, la modele descriptive între stările subunităților MT, la efecte cooperative dinamice de "automaton" între oscilațiile coerente ale centriolilor și citoscheletului, la efecte de "câmp sol-gel" citoplasmatic/ citoscheletal care utilizează imagini holografice. Dacă sunt corecte, aceste propuneri ar putea explica multe aspecte ale reprezentării informațiilor și ale organizării dinamice în sistemele biologice. Metafore pline de speranță, aceste modele nu sunt exclusive și pot fi suprapuse și complementare.

Procesarea informațiilor citoscheletice ar necesita un mecanism de cooperativitate, ordine pe distanțe lungi, coerență și/sau transfer de energie între componentele citoscheletice și subunitățile lor. Astfel de mecanisme posibile au fost discutate în capitolul anterior. Dovezile specifice care susțin transferul de energie și informații în microtubuli vor fi discutate aici, urmate de treisprezece modele de procesare a informațiilor citoscheletice.

## 8.1. Energie și informație în microtubuli

Vassilev, Kanazirska și Tien (1985) au susținut direct propagarea semnalelor în MT, reconstituind membrane bistrate din lipide cerebrale și studiind excitabilitatea lor electrică. Aceștia au suspendat membranele ca suprafețe plane paralele neconectate separate la câțiva milimetri într-o soluție tampon care conținea tubulină depolimerizată, GTP și alte componente fiziologice. Fiecare membrană a fost monitorizată electric, iar înregistrarea de bază a celor două membrane nu a arătat niciun cuplaj electric; atunci când o membrană a fost stimulată electric, aceasta s-a depolarizat, dar cealaltă membrană a rămas silențioasă. Atunci când tubulina a fost polimerizată în MT (prin scăderea concentrației de ioni de calciu), s-au format punți MT între cele două membrane și s-a observat o cuplare electrică între cele două membrane. Stimularea electrică a uneia dintre membrane a dus apoi la depolarizarea ambelor membrane. Adăugarea colchicinei, medicament destabilizator al MT, a împiedicat cuplarea, demonstrând că erau necesare microtubule intacte. Autorii au concluzionat că semnalizarea intermembranară a avut loc prin polarizarea indusă electric și modificările conformaționale ale componentelor MT care au legat cele două membrane. Ei au sugerat că funcții de comunicare similare au loc în mod obișnuit în cadrul citoscheletului.

O altă serie de experimente care susțin noțiunea de semnalizare mediată de MT este transferul de rezonanță prin fluorescență între MT și componentele membranare. Becker, Oliver și Berlin (1975) au dezvoltat o tehnică pentru a studia transferul de energie între grupuri fluorescente atașate separat de diferite subunități MT sau de membrane. Transferul de energie prin rezonanță are loc atunci când o porțiune fluorescentă a unei molecule ("cromofor") care este excitată electronic prin absorbția energiei luminoase transmite această energie unui alt cromofor "acceptor" la o anumită distanță. Această transmisie necesită suprapunerea spectrului de emisie al cromoforului "donor" cu spectrul de absorbție al acceptorului, fără a implica reabsorbția efectivă a luminii de către acceptor. Prin urmare, procesul este denumit transfer de energie prin rezonanță "non-radiativ" și are loc dacă distanța dintre cromofori este relativ mică, nu trebuie să depășească aproximativ 10 nanometri. În studiul lui Becker, Oliver și Berlin, izotiocianatul de fluoresceină (FITC) a fost folosit pentru a eticheta fluorescent o populație de subunități MT nepolimerizate sau membrane, iar o altă etichetă fluorescentă, izotiocianatul de rodamina (RITC) a fost folosită pentru a eticheta o a doua populație de tubulină. Ei au ales acești cromofori deoarece se leagă covalent de tubulină sau membrane și deoarece spectrul de emisie al "donatorilor" FITC se suprapune extins cu spectrul de absorbție al acceptorilor RITC. Înregistrările spectrelor de fluorescență dezvăluie "transferul de rezonanță" atunci când acesta are loc. Când MT au fost depolimerizate, un amestec de tubulină marcată cu donator și acceptor nu a arătat transfer de rezonanță. Prin polimerizarea sau agregarea

subunităților MT, excitarea fluorescentă a tubulinei marcate cu fluoresceină a dus la emisia fluorescentă a tubulinei marcate cu rodamina, deoarece cromoforii au fost aduși suficient de aproape unul de celălalt într-o rețea comună pentru a permite transferul de energie prin rezonanță. Transferul de energie a avut loc nu numai între subunitățile tubulinei în MT, ci și între subunitățile MT și componentele membranare.

Dovezile pentru un alt mod cu implicații comunicative în microtubuli sunt sugerate de alinierea paralelă a MT în câmpuri electrice și magnetice aplicate (Vassilev, Dronzine, Vassileva și Georgiev, 1982). Aceștia citează existența postulată a câmpurilor electrice de intensitate scăzută (Jaffe și Nuccitelli, 1977; Adey, 1975) în intervalul de 20 până la 500 de milivolți pe centimetru în interiorul celulelor (o milionime din puterea câmpului prin membranele polarizate). Vassilev și colegii săi au izolat tubulină de creier de șobolan și au creat condiții de polimerizare în prezența câmpurilor electrice pulsate de aproximativ 25 de milivolți pe centimetru. Micrografiile electronice au arătat că MT-urile s-au polimerizat în aliniere paralelă perfectă cu câmpul aplicat. Rezultate similare au fost obținute atunci când au fost aplicate câmpuri magnetice de intensitate scăzută (0,02 Tesla). Dacă ansamblurile de MT pot genera, de asemenea, câmpuri electrice și/sau magnetice de intensitate similară prin intermediul unui efect *electret*, atunci o comunicare cooperantă comparabilă cu „trucul cu funia indiană” poate fi utilizată în creșterea celulară, diferențiere și plasticitate sinaptică. MT ar putea genera apoi propriile căi pentru mișcarea citoplasmatică.

Alte date (Matsumoto și Sakai, 1979; Alvarez și Ramirez, 1979) sugerează că citoscheletul intraneuronal este necesar pentru excitabilitatea membranei nervoase și transmiterea sinaptică. Proteinele membranei nervoase, inclusiv canalele ionice și receptorii, care sunt ancorate de citoschelet, pot fi „vârfurile unui iceberg” al unui mediu citoscheletal comunicativ care ar putea utiliza o serie de moduri posibile pentru a obține cooperare colectivă și comportament celular inteligent. Următoarele modele sugerează unele strategii posibile.

## 8.2. Prelucrarea informațiilor citoscheletale

Următoarele modele au fost grupate aproximativ de autori și concepte semnificative.

### 8.2.1. Transducția senzorială MT/Atema

Mai mulți autori au discutat despre transducția informațiilor senzoriale prin distorsiunea mecanică a cililor: structuri asemănătoare centriolilor acoperite cu membrană, care se proliferează din celule. Lowenstein, Osborne și Warshall (1964) au sugerat că "kinociliul" celulelor senzoriale din urechea internă servea ca cili mobili invers. Ei au argumentat că cilii mobili produceau mișcare folosind energia chimică furnizată de hidroliza ATP, deci cilii mecanoreceptori ar trebui să transducă deformarea mecanică cauzată de stimuli din mediu pentru a oferi celulei "modele de energie chimică care reprezintă informații". Lettvin și Gestalind (1965) au propus, de asemenea, că cilii receptori funcționau "în virtutea transmiterii semnalelor mecanice la baza ciliului".

Biologul Jelle Atema (1973) de la Wood's Hole Oceanographic Institute, a cărui muncă s-a concentrat pe percepția acustică la nivel celular, a legat, de asemenea, microtubulii și transducția senzorială. Observând structura comună asemănătoare cililor în organitele receptoare senzoriale la o mare varietate de organisme, Atema a propus că cilii senzoriali transmit informații din mediu către restul celulei. El a sugerat că transducția a avut loc prin schimbări conformaționale propagate în subunitățile microtubulilor care constituiau acești cili. El a argumentat că microtubulii erau unități funcționale active în recepția și transducția informațiilor senzoriale.

Atema a revizuit schimbările conformaționale în dimeri subunitari de tubulină MT observate de o varietate de autori și a sugerat că acestea au avut loc în condiții fiziologice. De exemplu, oscilațiile flagelilor spermatici nu sunt aparent controlate de membrana lor celulară, ci mai degrabă sunt proprietăți directe ale microtubulilor lor în prezența ATP (Lindemann și Rikmensboel, 1972). Atema a concluzionat că o secvență de schimbări conformaționale subunitare este probabil să apară în microtubuli. În cilii și flageli motorii, distorsiunea ar proveni de la baza structurii și s-ar propaga distal, rezultând mișcări ondulate sau asemănătoare biciului care propulsează organismul. În cilii senzoriali, distorsiunea provine aparent în apropierea capătului distal al MT-ului ciliar și se propagă

în ambele direcţii sau cel puţin proximal spre corpul celular. Acolo, semnalul se poate propaga fie printr-o membrană excitabilă, fie prin corpul bazal de ancorare şi citoschelet. Deoarece deformarea mecanică şi/sau distorsiunea chimică locală sunt stimuli suficienţi pentru a porni un semnal de propagare în cilii senzoriali, teoria microtubulilor a lui Atema a presupus că distorsiunea conformaţiei tubulinei prin orice număr de surse a fost suficientă pentru a propaga un val conformaţional. Astfel, energia luminii, energia legăturilor chimice şi forţele mecanice ar putea fi transducate de cilii senzoriali.

Perspectiva lui Atema asupra procesării informaţiilor MT a fost o propagare „totul sau nimic” prin schimbări conformaţionale alosterice de-a lungul protofilamentelor de tubulină. Aceasta a fost prima teorie care a privit dincolo de comportamentul global al cililor pentru a lua în considerare efectele conformaţionale în componentele tubulinei. Teoriile ulterioare au devenit mai elaborate pentru a lua în considerare funcţii analogice localizate, comutare şi interacţiuni colective de vecinătate între subunităţile MT.

## 8.2.2. Transductori mecano-ionici MT/Moran și Varela

Sistemele senzoriale biologice, de la urechile interne umane până la receptorii din placa capilară a albinelor de miere, utilizează cilia senzorială pentru a transduce deformarea mecanică în informaţii cognitive precum poziţia în spaţiu („propriocepţie”). Biologii Moran şi Varela de la Harvard (1971) au studiat transducţia proprioceptivă a deformării mecanice în picioarele gândacilor. Acolo, spinii tactili conţin structuri mecanoreceptoare numite „*campaniform sensilla*” care constau dintr-un singur neuron bipolar de la vârful dendritei căruia se extinde un ciliu modificat care conţine între 350 şi 1 000 de microtubuli. Moran şi Varela au stabilit că acest fascicul paralel de MT era direct implicat în transducerea deformării mecanice către neuron.

Toţi neuronii sunt receptori mecanici, fiind sensibili la întindere pentru a provoca curenţi ionici. În sensilele campaniforme ale gândacului, ciliul este singura punte, iar transducţia nu are loc atunci când MT sunt incapacitaţi cu medicamente care leagă tubulina, cum ar fi colchicina şi vinblastina (Moran şi Varela, 1971). MT sunt, prin urmare, direct implicate în determinarea proprioceptivă a relaţiei spaţiale a sistemului cu mediul său. Moran şi Varela au văzut două roluri posibile pentru MT în funcţia lor de mecanoreceptor: ca tije de translaţie pasive sau ca generatoare de curenţi ionici/electrice. Ei au sugerat că MT se comportă ca „motoare mecanochimice conduse înapoi”. Compresia sau îndoirea MT ar provoca eliberarea ionilor legaţi din subunităţile MT, rezultând un flux ionic. Moran şi Varela au considerat că aceşti curenţi ionici sunt capabili să genereze depolarizare de membrană, fiind poate primii care au sugerat că MT pot regla membranele. Fiecare dimer de tubulină leagă reversibil 16 ioni de calciu, astfel încât fluxurile ionice de curent semnificativ ar putea rezulta dintr-o asamblare activă a MT paralele. Acest proces poate fi analog cu eliberarea coordonată a undelor de ioni de calciu de către reticulul sarcoplasmic din celulele musculare, care declanşează interacţiuni contractile actină-miozină. Se crede, de asemenea, că undele de calciu reglează îndoirea şi unduirea cililor şi flagelilor şi pot regla „substanţa fundamentală” a citoscheletului prin cuplare la stările sol-gel. Contribuţia lui Moran şi Varela a fost de a observa că MT ar putea elibera ioni precum calciu într-un mod controlat şi modificabil, util pentru comunicarea intracelulară.

## 8.2.3. Calcul citomolecular/Conrad și Liberman

Michael Conrad, informatician la Wayne State University, şi E. A. Liberman, informatician sovietic, au colaborat pentru a analiza aspecte ale calculului biomolecular, inclusiv citoscheletul. Ei consideră că „puterea de calcul a creierului se bazează în principal pe procese intracelulare”. Ei propun ca sistemul de nucleotide ciclice (molecule bogate în energie, cum ar fi AMP ciclic) să sculpteze modele dinamice tridimensionale în citoplasma neuronilor şi a altor celule, care sunt textura analogică a procesării informaţiilor în timp real. Conrad şi Liberman consideră că modelele de difuzie a reacţiei AMP ciclic, reglementate şi percepute atât de membranele celulare, cât şi de citoschelet, reprezintă o legătură între activităţile neuronale macroscopice şi calculul la scară moleculară. Conrad, cunoscut pentru conceptualizarea sa a enzimelor proteice ca posibile

componente de calculator (capitolul 1), a avansat, de asemenea, noțiunea de automate moleculare în interiorul celulelor (Conrad, 1973). Conrad și Liberman sugerează că citoscheletul intracelular percepe întinderea sau distorsiunea mecanică ca urmare a evenimentelor membranare și reglează în consecință AMP ciclic și alți biomesageri.

Conrad și Liberman (1982) sugerează:

> în neuroni, stimularea mecanică apare pe mișcarea scheletului tubului intraneuronal și a micromusculului ... detaliile scheletului și ale micromusculilor (sunt) potrivite pentru construirea analogului molecular ... al câmpului fizic real în care se mișcă acest sistem.

Conrad și Liberman consideră că un analog molecular din cadrul citoscheletului este o reprezentare a lumii externe. Extrapolat la sisteme complexe precum creierul, un astfel de analog citoscheletal ar putea fi suficient ca mediu de cunoaștere.

Conrad (1985) remarcă faptul că:

> *procesarea foarte paralelă a semnalelor și comportamentul vibrator din partea microtubulilor și a altor elemente citoscheletice ar putea juca un rol semnificativ.*

## 8.2.4. Procesarea semnalului MT/DeBrabander

Biologul celular Marc DeBrabander a studiat extensiv activitățile citoscheletului în mitoză și organizarea celulară în general. El și colegii săi de la Janssen Pharmaceutica Research Laboratories din Belgia (DeBrabander, DeMey, VandeVeire, Aerts și Geuens, 1975, 1986) au examinat distribuția și mișcarea proteinelor membranei celulare și au adunat dovezi că acestea sunt legate de sistemul de filamente de actină corticală. La rândul său, activitatea ordonată a filamentelor pare să fie controlată de sistemul de microtubuli, analog funcției sale în mișcarea celulară și forma celulei. DeBrabander (1977) observă că în aceste fenomene, MT acționează dincolo de capacitatea lor de elemente de susținere scheletală și funcționează ca transmițătoare de semnal de la centrul celulei la periferie și invers. Semnalizarea interactivă în citoschelet se potrivește cu observațiile conform cărora evenimentele locale dintr-un loc din celulă duc adesea la o rearanjare celulară globală. DeBrabander ridică mai multe caracteristici MT care ar putea favoriza semnalizarea: polaritatea intrinsecă a MT, existența "microtubulilor centrifugi și centripeti", mecanismul de propagare conformațională propus de Atema (1973), mișcarea organitelor direcționale și topografia, și transportul ionilor precum calciul de-a lungul microtubulilor.

DeBrabander și asociații săi (1986) au inovate, de asemenea, noi tehnici în examinarea structurii și dinamicii citoscheletice. Acestea includ „Microscopia Nanovid”, o microscopie video la scară nanometrică în care transportul particulelor marcate de-a lungul MT individuale poate fi vizualizat și o metodă de marcare a subunităților individuale de tubulină în cadrul MT care sunt fie tirozinate, fie glutamate (Geuens, Gundersen, Nuydens, Cornelissen, Bulinski, DeBrabander, 1987). După cum se descrie în capitolul 5, MT polimerizate pot fi detirozinate în citoplasmă, ulterior intrării genetice direcționate de ADN. Tirozina, aminoacidul terminal din tubulină, poate fi îndepărtată pentru a expune glutamatul ca noul aminoacid terminal. Astfel, toate tubulinele din cadrul MT polimerizate sunt fie tirozinate, fie glutamate. O varietate de factori citoplasmatici determină dacă o anumită tubulină este tirozilată sau nu. Semnificația sau funcția precisă a tirozinării/glutamării este necunoscută, dar ar putea servi ca o funcție convenabilă de programare sau de memorie. DeBrabander și colegii săi au dezvoltat o tehnică de marcare dublă în care particulele de imunogold se leagă de subunitățile de tubulină. Particulele mari de imunogold (10 nanometri) identifică tubulina glutamată, iar particulele mai mici (5 nanometri) se leagă de tubulina tirozilată. Modelele de tubulină tirozilată/glutamată în cadrul MT prezintă o distribuție eterogenă și sugerează potențialul unui mecanism de codificare. Atașarea MAP, conformația tubulinei, legarea calciului și alți factori ar putea fi cuplate la funcția MT prin intermediul unor astfel de modele. Deși predispoziția la detirozinare poate fi legată genetic de izoenzimele de tubulină, modelele reale de

detirozinare a tubulinei sunt determinate de factori citoplasmatici „în timp real”. DeBrabander și colegii săi au oferit prima dovadă directă a modelelor modificabile de variabilitate a tubulinei în microtubuli intacti. În consecinţă, MT par capabile de procesare a semnalului, pe lângă transducţia semnalului.

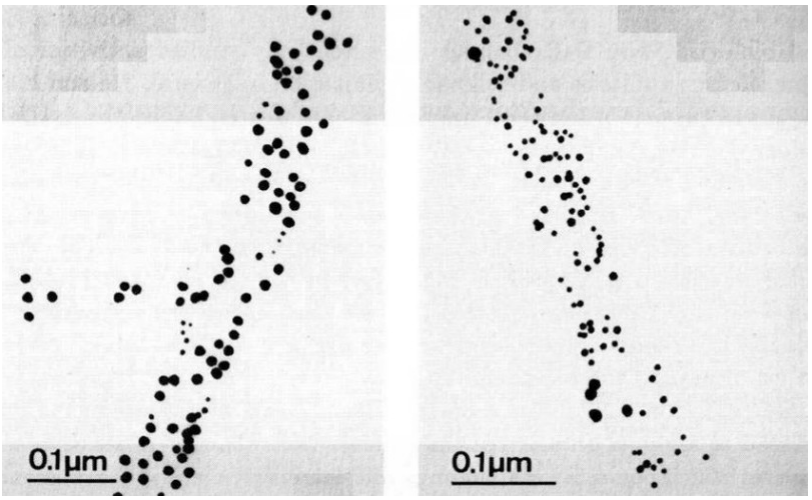


*Fig. 8.1: Microtubuli din celule PtK2 dublu marcați cu anticorp și imunogold sub mărire mare. Cercurile mari (particule de aur de 10 nanometri, săgeți) etichetează subunitățile de tubulină glutamate, cercurile mici (particule de aur de 5 nanometri) etichetează subunitățile de tubulină tirozinate. Stânga: microtubul interfazic, dreapta: microtubul fusiform. Cu permisiunea lui Geuens, Gundersen, Nuydens, Cornellisen, Bulinski și DeBrabander (1986), prin amabilitatea lui Marc DeBrabander și Janssen Pharmaceutica Research Laboratories.*

## 8.2.5. Procesoare de șiruri citoscheletice/Barnett

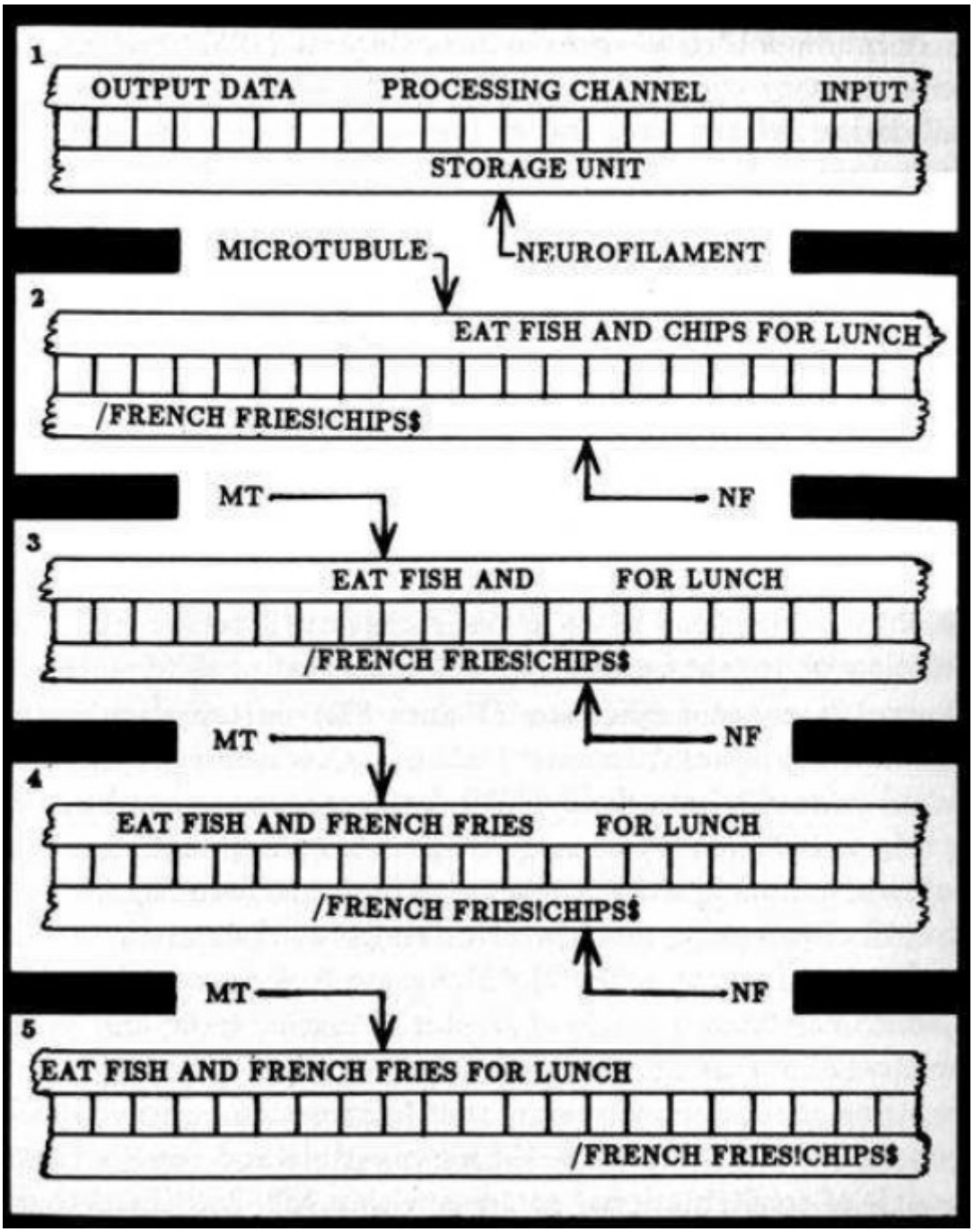


*Fig. 8.2: Modelul procesorului de șir al lui Barnett de stocare a memoriei microtubule-neurofilament. 1) un canal de procesare (microtubul-MT) este conectat lateral la o unitate de stocare paralelă (neurofilamentul-NF), 2) informațiile traversează canalul de procesare de la dreapta la stânga; pe canalul de stocare, perechile de sinonime se deplasează de la stânga la dreapta, 3) pe măsură ce cuvântul „chips" se deplasează de la sine în stocare, acesta este șters, 4) «chips» este înlocuit cu sinonimul său „Trench fries" și 5) înlocuirea este completă. De Paul Jablonka.*

Omul de știință în domeniul informaticii de la Brooklyn College, Michael P. Barnett, a urmărit proiectarea componentelor computerizate adecvate dispozitivelor la scară moleculară. Pe lângă dezvoltarea unor comutatoare binare minuscule care să fie asamblate în circuite pe arhitectură digitală, Barnett (1987) a căutat, de asemenea, o memorie asociativă care să poată analiza date analogice imprecise, precum și informații digitale convenționale. Sistemele fabricate cu aceste

caracteristici ar putea fi versatile, puternice şi o binefacere pentru obiectivele inteligenţei artificiale. La fel ca mulţi cercetători orientaţi spre IA, Barnett s-a îndreptat spre biologie pentru indicii. Cu toate acestea, spre deosebire de majoritatea cercetătorilor în IA, Barnett a cercetat tărâmul biologic subcelular în căutarea conceptelor de procesare a informaţiilor la scară moleculară. Imaginaţia sa a fost capturată de microtubulii citoscheletici şi neurofilamente! El a propus reprezentarea informaţiilor ca modele în subunităţile polimerice citoscheletice. El propune că stările specifice ale subunităţilor pot fi caracterizate prin „electroni transferaţi din orbitali moleculari delocalizabili”, dar premisa sa de bază ar fi susţinută şi de alte cauze ale variabilităţii stării conformaţionale în rândul subunităţilor polimerice MT şi neurofilament. Barnett sugerează că structurile citoscheletice filamentoase funcţionează ca şiruri de informaţii analoge procesoarelor de text.

În conceptualizarea lui Barnett (Figura 8.2), şirurile de informaţii se mişcă de la dreapta la stânga de-a lungul canalelor de procesare, care rulează paralel cu canalele de memorie unidimensionale în care pot fi stocate şirurile de caractere. Transformatoarele de şir ale lui Barnett pot efectua înlocuiri globale pe secvenţe de caractere, la fel ca procesoarele de text obişnuite. Modelul său presupune existenţa unor canale de procesare (MT) de-a lungul cărora se pot deplasa şiruri de informaţii şi canale de memorie (neurofilamente) care constau dintr-o succesiune de locaţii, fiecare putând conţine un singur caracter. Matricea paralelă şi interconectarea laterală a MT şi neurofilamentelor ar putea califica aceste elemente citoscheletice ca procesoare de şir, presupunând că informaţiile pot fi reprezentate în polimeri. Modelul lui Barnett este astfel compatibil şi complementar cu alte modele de modele conformaţionale în MT şi citoschelet.

## 8.2.6. "Gradienţi" de microtubuli /Roth, Pihlaja, Shigenaka

Roth, Pihlaja şi Shigenaka (1970) şi Roth şi Pihlaja (1977) au analizat procesarea informaţiilor în două tipuri de ansambluri biomoleculare: rozete membranare şi microtubuli. Citând efecte alosterice cooperative între proteine adiacente sau subunităţi proteice, ei propun că gradienţii conformaţionali în matricele proteice reprezintă informaţii prin modele de stări conformaţionale între vecinii apropiaţi în reţelele proteice.

Rozetele sunt inele ordonate care constau din şapte până la doisprezece proteine încorporate în membrană, importante în fuziunea membranară la organismele inferioare.

Un exemplu de funcţie a rozetei este în „hrănirea prin sugere”, în care anumite protozoare se fixează de o membrană celulară gazdă şi se hrănesc cu citoplasma acesteia, sugând conţinutul prin intermediul unei rozete comune ambelor membrane. Bardele (1976) a sugerat că rozetele utilizează concepte de cooperativitate şi alosterism, deoarece declanşarea dinamicii conformaţionale în cadrul complexului nu necesită contact cu toate particulele. Stimuli la doar una sau câteva subunităţi, urmate de modificări alosterice în rest, pot provoca activarea complexului total. Satir (1973) a arătat că rozetele din membranele de tetrahymena au perechi de rozete înregistrate una cu cealaltă: inele interne şi externe de opt proteine fiecare. Inducerea unei modificări conformaţionale prin legarea unei molecule efector la rozeta externă provoacă modificări cooperative alosterice în conformaţia şi stările funcţionale ale tuturor celor şaisprezece subunităţi. La mutanţi cu rozete aberante, este necesar un minim de 5 subunităţi înainte ca rozetele să răspundă funcţional.

Roth, Pihlaja şi Shigenaka au considerat că următorul nivel de complexitate în ansamblurile proteice este exemplificat de microtubuli. Ei au considerat MT ca modele extrem de orientate de dimeri de tubulină şi au anticipat cel puţin trei stări conformaţionale diferite ale fiecărui dimer de tubulină, pe baza studiilor de legare a tubulinei la vinblastină şi GTP (Luduena, Shooter şi Wilson, 1976). Biologii Roth, Pihlaja şi Shigenaka (1970) au studiat modelele de legătură între MT în cadrul axopodului unui organism simplu numit *Echinosphaerium*, un ansamblu spiralat complex de sute de MT. Matricele spirale, împletite, modelate precis de MT care alcătuiesc axopodul sunt explicate prin punţi inter MT de două lungimi diferite. Autorii au considerat că aceste două tipuri de legături nu numai că pot explica structura complexă a axopodului, dar indică, de asemenea, două stări conformaţionale diferite ale dimerilor de tubulină la care se ataşează punţile. De-a lungul lungimilor axopodului, legăturile microtubulare sunt găsite la intervale care reflectă legarea la aproximativ fiecare al patrulea dimer. Aceste site-uri de legătură precise au reprezentat un cod de un fel pentru

Roth, Pihlaja și Shigenaka, care au propus în 1970 că modelele recurente sau „gradienți” au existat în microtubuli pentru a localiza aceste modele de legare precise. Ei au definit aceste modele ca „gradioni”: secvențe sau câmpuri conformaționale repetate în care pot exista simultan modele multiple variabile în aceeași arhitectură moleculară.

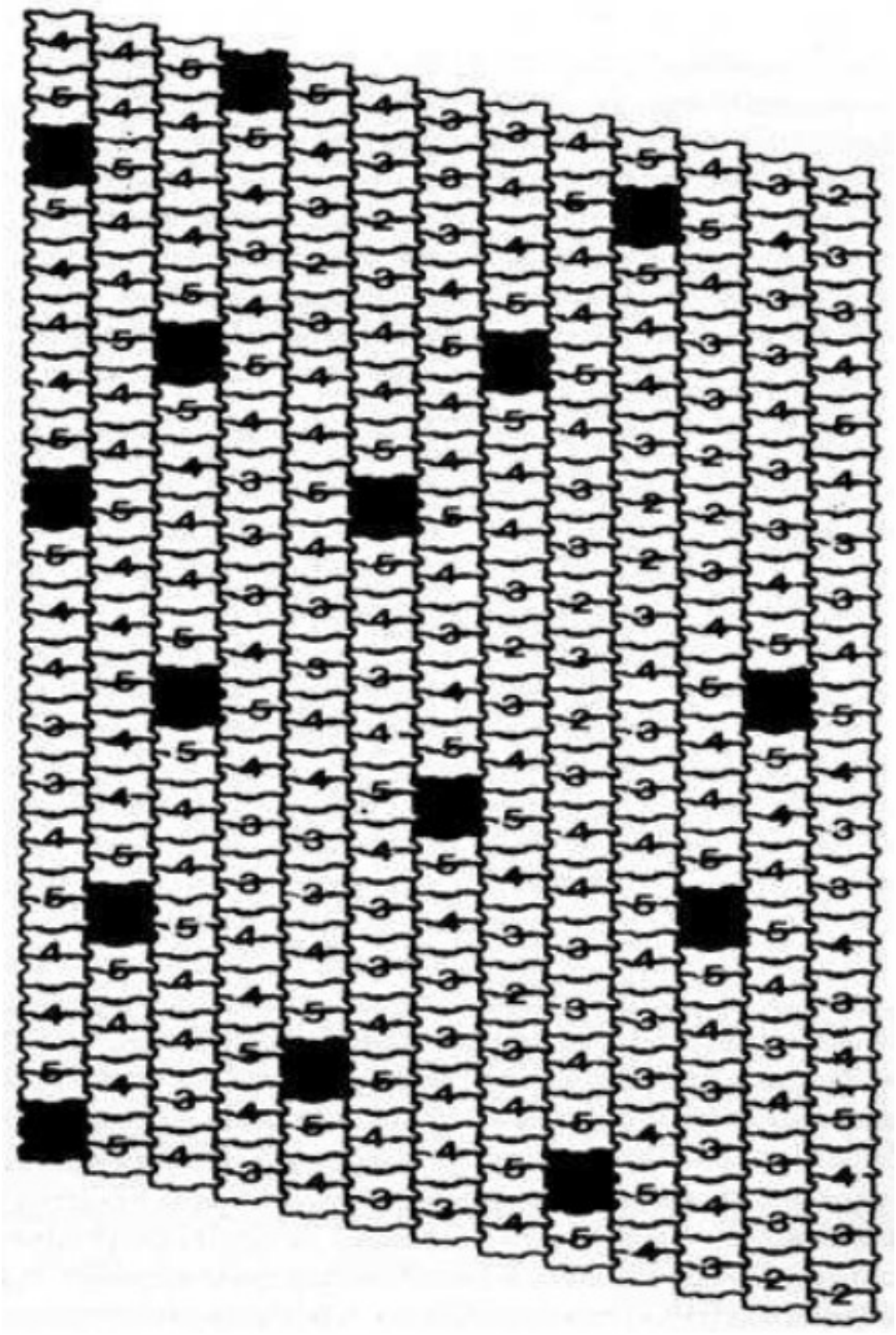

*Fig. 8.3; „Gradioni” în cadrul rețelei de microtubuli. Dimerii umbriți întunecați sunt modele de fixare a MAP; dimerii numerotați sunt determinați de proximitatea față de locurile de fixare a MAP. Se consideră că legarea MAP și alți „gradionatori” induc modele codificate care reprezintă informații. De la Roth, Pihlaja și Shigenaka (1970) de Paul Jablonka*.

Stările conformaționale ale subunităților individuale de tubulină se credeau a fi controlate de factori pe care Roth, Pihlaja și Shigenaka i-au numit "gradionatori". Aceștia ar putea include conformația indusă de ligand, izoenzima de tubulină, detirozarea sau legarea MAP-urilor, inclusiv punțile inter-microtubuli. Ei au definit câmpuri de *gradion* discrete în interiorul suprafețelor microtubulilor ca zonele de vecinătate din jurul punților inter-microtubuli MAP. Au presupus în continuare cinci stări conformaționale posibile pentru fiecare dimer determinat de locurile de legătură inter-MT și efectele lor alosterice cooperative, precum și legarea dimerilor de un număr de substraturi native diferite sau molecule străine. Modelul stărilor conformaționale ale dimerilor de tubulină într-o regiune a rețelei MT "guvernată" de atașarea legăturilor inter-MT (sau alte MAP-uri) este definit ca un "gradion", sau câmp conformațional care include aproximativ șaptesprezece dimeri. În consecință, ar putea exista $5^{17}$ de modele *gradion* diferite dacă conformația fiecărei subunități ar fi independentă de toate celelalte. Cooperativitatea și efectele alosterice exclud independența, astfel încât numărul de "gradioni" MT posibili este oarecum mai mic, dar încă substanțial. Roth și Pihlaja (1977) văd formarea multor "gradioni" în interiorul MT axopodului ca un mecanism pentru determinarea poziției și codificarea pentru conexiuni. Aplicat la citoscheletul neuronal, astfel de modele deterministe ar fi, în general, utile pentru procesele mentale din creier și ar fi un candidat viabil pentru "grâuntele engramei".

Teoria *gradion* poate fi aplicată oricărui câmp mare de particule alosterice. Alosterismul și cooperativitatea în membrane, joncțiunile celulare și particulele proteice din multe celule ar putea explica aspecte ale comunicării cooperative, cu toate acestea microtubulii par deosebit de potriviți pentru funcțiile de informație. Modelul MT *gradion* al lui Roth, Pihlaja și Shigenaka este o teorie specifică timpurie a procesării informațiilor în ansamblurile proteice în general, și în special în microtubuli.

## 8.2.7. Centrioli giroscopici/Bornens

Biologul molecular francez Michel Bornens (1979) a investigat mecanismele celulare de organizare și susține o stabilitate dinamică bazată pe proprietățile organizatorice ale centriolilor și ale citoscheletului. Mai exact, Bornens propune că centriolii sunt animați de o rotație oscilatorie rapidă în jurul axei lor longitudinale, ceea ce duce la o stabilitate dinamică și o inerție analogă cu cea a unui cap rotativ sau a unui giroscop. Mișcările periferice din întreaga celulă sunt interconectate de citoschelet, centriolii giroscopici fiind un punct de referință inert care asigură gravitația celulară. Centriolii și centrele de organizare a microtubulilor (MTOC) sunt originea coordonatelor spațiale ale celulei, iar mișcarea citoplasmatică pare să se producă în raport cu MTOC. Bornens compară mișcarea din fiecare cilindru cu un motor electric pas cu pas, în care „roata de car” (sau „rotița”) centrală este echivalentă cu un «stator» ATP-dineină, iar peretele centriolar cu „rotorul” în mișcare. Cuplul continuu de rotație al centriolilor ar putea servi la propulsarea lor prin citoplasmă, ca un „șurub a lui Arhimede” (Record, 1986). Bornens ia în considerare și posibilitatea unei oscilații „înainte și înapoi”, utilă pentru scanarea mediului celular.

Revizuind modelul giroscopic centriolar al lui Bornens, Albrecht-Buehler (1981) a pus sub semnul întrebării rata mare de rotație necesară pentru o inerție semnificativă. Albrecht-Buehler a calculat că centriolii ar trebui să se rotească la frecvențe de 2,3 milioane de rotații pe minut înainte ca energia lor cinetică să se potrivească cu una kT (energia termică a unui grad molecular de libertate). Prin urmare, "frecvențe de rotație mult mai mari ar fi necesare înainte ca centriolul să poată rezista impactului moleculelor care se mișcă termic în jurul lor și să mențină o orientare axială stabilă" (Albrecht-Buelhler, 1981). Bornens a răspuns sugerând un mecanism submicroscopic "care permite o mai mare independență a centriolului față de materialul înconjurător". Factorii care ar putea susține afirmația sa includ apa ordonată cuplată cu oscilația centriolară, o proprietate necunoscută a "materialului pericentriolar", stratul de sarcină ionică sau chiar supraconductivitatea, așa cum a sugerat grupul lui Frohlich și Del Giudice (Capitolul 6). Oscilațiile rotative în intervalul de 10 pe secundă ar fi compatibile cu constatările mai multor cercetători (Capitolul 9) care au găsit absorbția colectivă de energie în intervalul de $10^7$ pe secundă de către ansambluri de proteine cum ar fi învelișurile virale.

Bornens consideră centriolii drept centrul unui citoschelet dinamic care comunică şi integrează informaţiile celulare. În viziunea lui Bornens asupra organizării citoscheletice, microtubulii sunt conductori de informaţii spaţiale centrifuge, organizatori rigizi ai spaţiului celular în care semnalele fizice sau electrice se propagă ca modificări conformaţionale ale subunităţilor MT. Filamentele intermediare şi reţeaua microtrabeculară participă, de asemenea, la viziunea lui Bornens asupra unei reţele dinamice de polimeri pulsaţi. El sugerează, de asemenea, că rotaţia centriolară generată de ATP declanşează impulsuri de propagare de-a lungul microtubulilor prin contactul/stimularea tranzitorie a celor nouă dublete/triplete MT rotative din peretele centriolului cu corpurile lor satelite înconjurătoare. Aceasta ar duce la semnale ritmice prin citoschelet cu o frecvenţă de nouă ori mai mare decât cea a rotaţiei centriolului. Semnalele ritmice, de propagare, sunt compatibile cu coerenţa, solitoni şi alte modele. Apariţia lor în tot citoscheletul ar fi mecanisme apropiate de natura vieţii în sine.

## 8.2.8. Semnalizare Centriol-MT/Albrecht-Buehler

Biologul Guenter Albrecht-Buehler de la Northwestern University a considerat întrebarea generală a inteligenţei în citoplasmă (Capitolul 5), precum şi două modele specifice de procesare a informaţiilor citoscheletice: detectarea semnalului centriolar şi propagarea impulsurilor MT. Pereţii centriolilor sunt compuşi din nouă dublete sau triplete MT dispuse într-un cilindru. Fiecare triplet MT poate consta din două MT-uri incomplete în formă de C şi unul complet în formă de O, fuzionate longitudinal. Tripletele sunt aranjate la un unghi de 30-45 grade faţă de cilindrul principal, înclinate pentru a forma o lamă care avansează cu un increment final de o *nonă* din perimetru, imediat sub poziţia lamei următoare. O linie trasată prin orice lamă se conectează cu marginea interioară a lamei precedente (Figura 8.4).

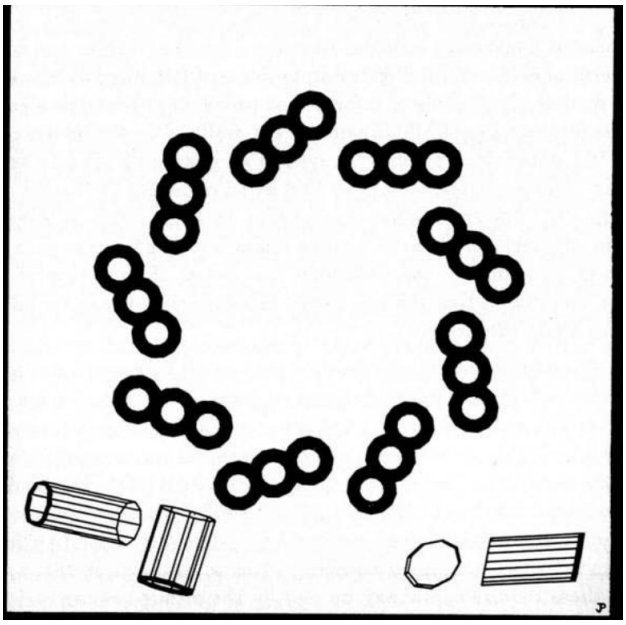

*Fig. 8.4: Centriolul în secţiune transversală este format din nouă triplete MT înclinate ca „jaluzelele veneţiene” faţă de axa centriolului. Perechile de centriole sunt formate din cilindri perpendiculari. Albrecht-Buehler (1985) susţine că aceste caracteristici sunt ideale pentru detectarea semnalelor. Bornens sugerează că oscilaţiile rotative ale centriolilor conduc la funcţia giroscopică. De Paul Jablonka.*

Comportamentul colectiv al citoplasmei ar părea să necesite un format de comunicare, iar Albrecht-Buehler sugerează că centriolii sunt perfect proiectaţi pentru a detecta atât intensitatea, cât şi direcţia semnalelor liniare. Un posibil exemplu de semnal foarte specific, dar omniprezent, propagat într-o linie dreaptă în mediul celular este radiaţia infraroşie a moleculelor din interiorul şi din jurul celulelor (Albrecht-Buehler, 1981). După cum s-a discutat în Capitolul 6, transmiterea energiei biomoleculare infraroşii ar necesita protecţie faţă de apa în vrac şi, poate, cuplare neliniară

la stările conformaționale structurale. Ambele aceste cerințe pot fi îndeplinite de apa și ionii ordonați care înconjoară citoscheletul și materialul pericentriolar dens în electroni.

Navigatorii celulari, centriolii sunt implicați în orientarea direcțională a celulelor în mișcare, stabilirea arhitecturii celulare în creșterea și diferențierea celulară și toate rearanjările dinamice ale citoplasmei. În încercarea de a înțelege cum ar putea naviga și orienta centriolii, Albrecht-Buehler se întreabă cum ar arăta un detector de semnal spațial tehnologic, optim proiectat. Instrumente precum scanerele radar pot determina direcția semnalelor prin scanarea diferitelor direcții secvențial. Cu toate acestea, astfel de scanere ratează semnalele care sosesc dintr-o direcție în timp ce o alta este scanată. Un instrument non-scanare proiectat corespunzător poate asculta simultan în toate direcțiile, fără piese în mișcare. Albrecht-Buehler subliniază unele caracteristici geometrice ale unui detector „angular” non-scanare, optim proiectat. Cu semnale care sosesc din direcții arbitrare, un detector proiectat ca un cerc cu un număr de repere spațiate regulat în jurul circumferinței sale ar fi accesibil și capabil să identifice direcția. Simetria de nouă ori oferă dimensiuni mici cu rezoluție unghiulară suficientă. Pentru a localiza o sursă de semnal, un detector trebuie să împiedice un semnal emis să ajungă la mai mult de un receptor. Un aranjament circular simplu nu ar reuși să îndeplinească această cerință, deoarece aproximativ jumătate din receptori sunt accesibili unui semnal emis de la orice sursă. O modalitate simplă de a îmbunătăți designul este atașarea unor jaluzele sau „lame” pe o parte a fiecărui receptor pentru a absorbi sau a devia un semnal oriunde interacționează cu acestea. Un aranjament radial de jaluzele drepte ar fi inadecvat, deoarece cel puțin doi receptori ar rămâne accesibili semnalelor de la aceeași sursă. Cu toate acestea, dacă jaluzelele sunt curbate circumferențial, se obține un unghi optim atunci când jaluzelele împiedică accesul la toți, cu excepția unui singur receptor, fără a produce „puncte oarbe”, zone din care sursele de semnal nu pot ajunge la niciunul dintre receptori. Jaluzelele care restricționează accesul la receptori unici sunt și mai bune dacă forma lor este concavă. Folosită de producătorii de „jaluzele venețiene”, această curbură evită posibilitatea ca un semnal situat direct în linie cu o jaluzea dreaptă să poată ajunge la doi receptori adiacenți. În consecință, un semnal este primit nu de receptorul cel mai apropiat de sursa de semnal, ci de unul situat la un unghi fix față de direcția incidentă. „Lamele” centriolare se extind deasupra și sub cilindrul centriolar și sunt înclinate sau răsucite. Albrecht-Buehler vede acest cuplu ca rezoluție unghiulară suplimentară, dar aranjamentul „asemănător elicei” ar putea servi și pentru a înșuruba centriolii prin citoplasmă, presupunând o rotație centriolară, așa cum a sugerat Bornens (Record, 1986). Două detectoare sunt cel mai bine plasate la unghiuri drepte unul față de celălalt, astfel încât unul dintre ele să poată localiza „longitudinea”, în timp ce celălalt localizează „latitudinea” sursei de semnal. Corpurile bazale asemănătoare centriolilor, fixate perpendicular pe o suprafață celulară bidimensională, nu sunt de obicei însoțite de un al doilea corp bazal la unghiuri drepte. Astfel, formarea cilindrului în perechi sub unghi drept permite expunerea globală și calcularea tridimensională inutilă în corpurile bazale. Viziunea lui Albrecht-Buehler asupra centriolilor ca detectoare de semnal perfect proiectate este complementară cu conceptul lui Bornens de oscilator giroscopic și centru de semnalizare. Combinația celor două modele are ca rezultat un centru celular dinamic, capabil să piloteze activitățile citoplasmatice.

Albrecht-Buehler (1985) a considerat, de asemenea, un mecanism de propagare a semnalului de-a lungul microtubulelor. El consideră că fiecare protofilament MT este un lanț de dimeri de tubulină alfa-beta: AB, AB, AB, AB, AB. În peretele unui microtubul, fiecare monomer este în contact cu alți monomeri ai aceluiași protofilament și cu cei ai protofilamentelor adiacente. În consecință, fiecare monomer este supus forțelor de atracție Van der Waals din partea monomerilor de tubulină din jur, care țin împreună protofilamentele și cilindrii MT. Albrecht-Buehler a propus că fiecare dintre aceste interacțiuni trebuie să slăbească legătura dimerului A-B; în consecință, peretele unui microtubul există într-o stare de rezonanță în ceea ce privește forțele relative ale legăturilor intermonomerice. De exemplu, (A-B) (A-B) ... (A-B) (A-B) ar putea rezona cu (A) (B-A) (B-A)... (B-A) (B). Un astfel de lanț rezonant ar putea propaga informația cu o viteză apropiată de cea a luminii.

Albrecht-Buehler sugerează o rezonanță comunicativă coerentă între stările conformaționale ale proteinelor în cadrul ansamblurilor MT.

## 8.2.9. Tensegritate dinamică/Heidemann și Jarosch

Buckminister Fuller a propus o arhitectură interesantă construită din componente care pot avea o structură recursivă sau fractală (Fuller, 1975). Structura sa la nivel macro, un "catarg de tensegritate", este o structură rigidă construită dintr-o asamblare de elemente de tracțiune și compresie. Elementele de compresie ale barelor solide sunt izolate unele de altele, fiind menținute împreună de elementele de tracțiune. Într-una dintre variantele lui Fuller, el menționează că în catargul de tensegritate macro, fiecare bară solidă individuală poate fi înlocuită cu o versiune miniaturizată a catargului de tensegritate macro. Și apoi, fiecare dintre barele solide miniaturale poate fi la rândul său înlocuită cu un catarg de tensegritate subminiatură și mai mic, și așa mai departe, până la nivel atomic. Astfel, structurile de tensegritate pot avea o substructură fractală.

Joshi, Chu, Buxbaum și Heidemann (1985) au arătat că citoplasma are atât elemente de compresie, cât și elemente de tracțiune. Microtubulii semi-rigizi sunt supuși compresiei, probabil datorită tensiunii generate de filamentele de actină și de rețeaua microtrabeculară sau "citomusculatura" (Capitolul 5). În general, MT nu intră în contact unul cu celălalt, astfel încât capacitatea de auto-susținere a citoplasmei poate proveni din tensegritate.

Robert Jarosch (1986) a publicat o serie de lucrări care descriu interacțiunile actină-MT care sugerează că 1) filamentele contractile de actină sunt înfășurate spiralat în jurul microtubulilor, 2) contracția coordonată a filamentelor de actină imprimă un cuplu de rotație MT, cam ca un titirez, 3) filamentele de actină înfășurate în direcții opuse pe același MT pot provoca oscilații de rotație ale MT. Aceste două modele se potrivesc pentru a oferi o imagine a unei rețele de tensegritate citoplasmatică dinamică în care citoscheletul se poate răsuci înainte și înapoi, chiar "rockin' and rollin'!". Perturbarea oricărei părți a unei astfel de rețele de tensegritate ar putea avea consecințe dinamice în întregul său domeniu. Modificările tranzitorii ale tensiunii, compresiei sau ritmului oscilatoriu cauzate de o varietate de factori ar fi detectabile și posibil amplificate în întregul citoschelet.

## 8.2.10. Sondare MT dinamică/Kirschner și Mitchison

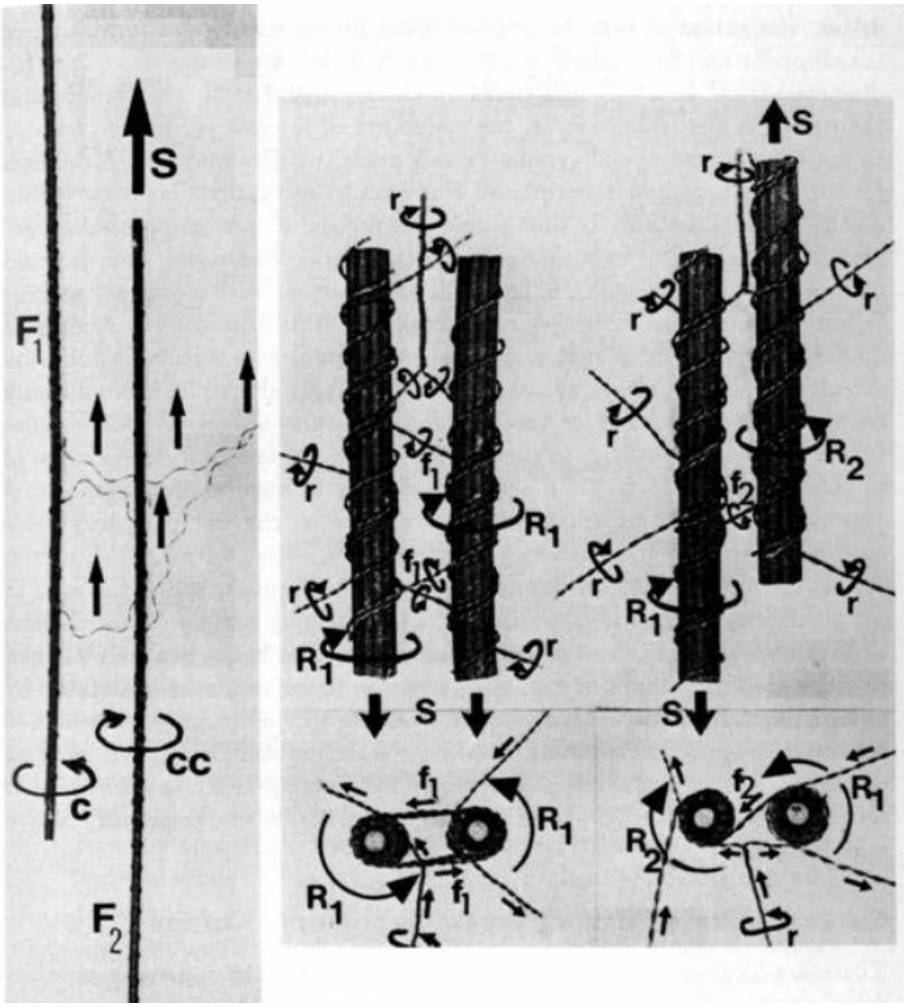


*Fig. 8.5: Robert Jarosch a propus că filamentele de actină se înfășoară în jurul microtubulelor şi se contractă, determinând MT să se rotească şi să oscileze în jurul axei lor lungi. Cu permisiunea lui Robert Jarosch (1986).*

Dovezile puternice susţin conceptul de instabilitate dinamică în asamblarea microtubulilor (Capitolul 5). Multe MT există fie în faze de creştere, fie de contracţie, iar MT stabilizaţi doar la un capăt de centrele de organizare a microtubulilor bazate pe centrioli (MTOC) tind să predomine. Retenţia selectivă a MTOC-urilor bazate pe MT stabileşte polaritatea celulară importantă în extinderea axonilor şi dendritelor, alungirea celulelor în dezvoltarea embriologică şi formarea lamellipodiilor şi filopodiilor în celulele locomoatoare. Toate acestea sunt exemple ale "trucului cu sfoara indiană" în care celulele cumva îşi aleg direcţia de creştere, apoi cresc în acea direcţie. Un semnal prezentat la periferia celulei poate duce la rearanjări ale simetriei şi polarităţii celulare. Kirschner şi Mitchison (1986) întreabă: "cum poate un indiciu periferic să ducă la reorganizare profundă în interiorul unei celule?" O posibilitate este că un semnal este transmis centrului de organizare a microtubulilor, conducând la o schimbare a structurii, orientării şi nucleaţiei direcţionate a microtubulilor. Acest lucru ar fi în concordanţă cu un rol principal pentru integrarea informaţiilor şi luarea deciziilor în cadrul MTOC. O idee mai simplă, "non-ierarhică", este că un semnal la periferie afectează distribuţia în mod direct. Deoarece întreaga matrice citoscheletală este foarte dinamică, ar fi necesar doar să se stabilizeze sau să se destabilizeze un subset particular de microtubuli pentru ca întregul citoschelet să se transforme rapid. Stabilizarea preferenţială a unui microtubul (MTOC, acoperirea GTP, legarea de structuri legate de membrană etc.) ar putea fi mediată de interacţiuni la periferia celulei, aproape de locul de primire a informaţiilor din mediul înconjurător. Kirschner şi Mitchison (1986) au propus că dinamica matricei de microtubuli duce la

sondarea multor regiuni la întâmplare și, prin stabilizarea anumitor conformații pe măsură ce apar, celula "poate ajunge la o structură care nu este definită precis de informațiile genetice, dar îndeplinește un rol funcțional specific, așa cum este dictat de factorii de mediu." MT-urile instabile dinamic oferă multe posibilități pentru controlul distribuției MT prin stabilizare selectivă. Kirschner și Mitchison sugerează că tendința de sondare și transformare este un avantaj fundamental care a favorizat evoluția microtubulilor activi dinamic.

## 8.2.11. Simetria șurubului de ambalare a sferelor/Koruga

Există 32 de aranjamente de simetrie posibile ale sferelor ambalate într-un cristal cilindric. Erickson (1973) a folosit împachetarea hexagonală a monomerilor proteici pentru a explica forma și modelele virușilor, flagelilor și microtubulelor. Djuro Koruga (1986) de la Unitatea de cercetare a mașinilor moleculare a Universității din Belgrad a analizat legile de simetrie care descriu împachetarea sferelor cilindrice și structura microtubulelor. Koruga a utilizat atât împachetarea hexagonală, cât și împachetarea cubică a sferelor cu fața centrată pentru a explica organizarea microtubulelor. Koruga (1986):

> *Grupul special de simetrie care reprezintă împachetarea sferelor în microtubuli este 'Oh6/4)'. Împachetarea hexagonală poate fi descrisă utilizând condiții fixe dacă centrele sferelor se află pe suprafața cilindrului și dacă valorile sferelor pe axa lungă a cilindrului sunt aceleași ca în dimensiunea împachetării cubice cu fața centrată. Simetria celor șase falduri și configurația dimerului conduc la simetria șurubului pe cilindru: un domeniu se poate repeta prin translocarea sa în spirală pe cilindru. Din teoria codării, legile simetriei subunităților tubulinei sugerează că 13 protofilamente sunt optime pentru cele mai cunoscute coduri binare de corectare a erorilor cu 64 de cuvinte de cod. Teoria simetriei mai sugerează că un cod trebuie să conțină aproximativ 24 de subunități monomerice sau 12 dimeri*.

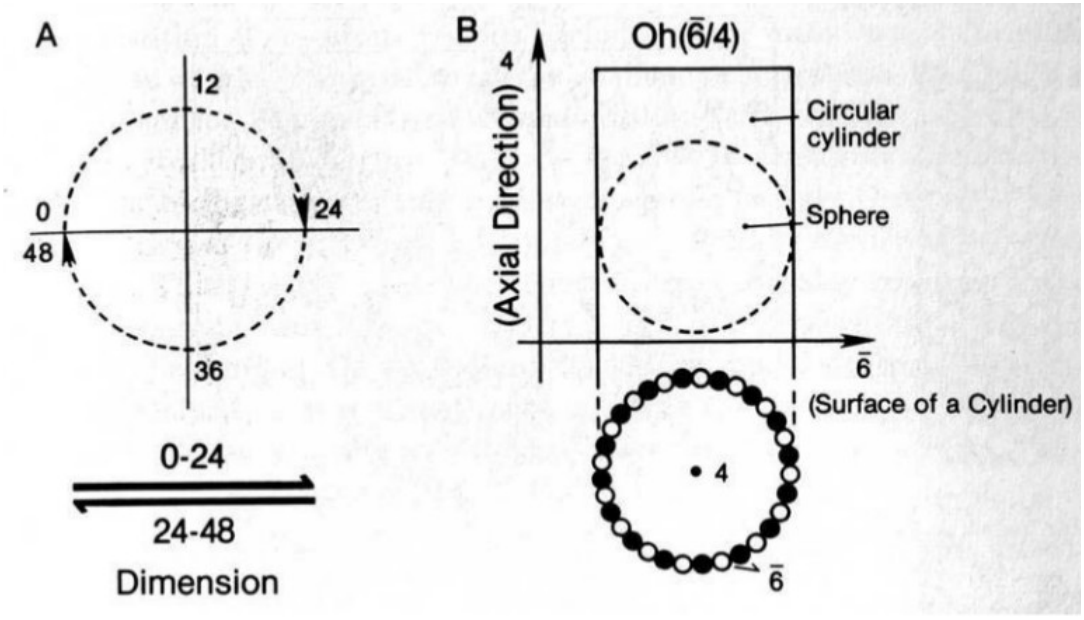


*Fig. 8.6: Derivarea lui Koruga a simetriei microtubulelor. Cu permisiunea lui Djuro Koruga (1986).*

Argumentele simetriei lui Koruga pot fi comparate cu conceptul de „gradion” al lui Roth, Pihlaja și Shigenaka, în care se consideră că un câmp de aproximativ 17 monomeri reprezintă o unitate informațională de bază. Koruga concluzionează, de asemenea, că simetria și structura microtubulilor sunt optime pentru procesarea informațiilor.

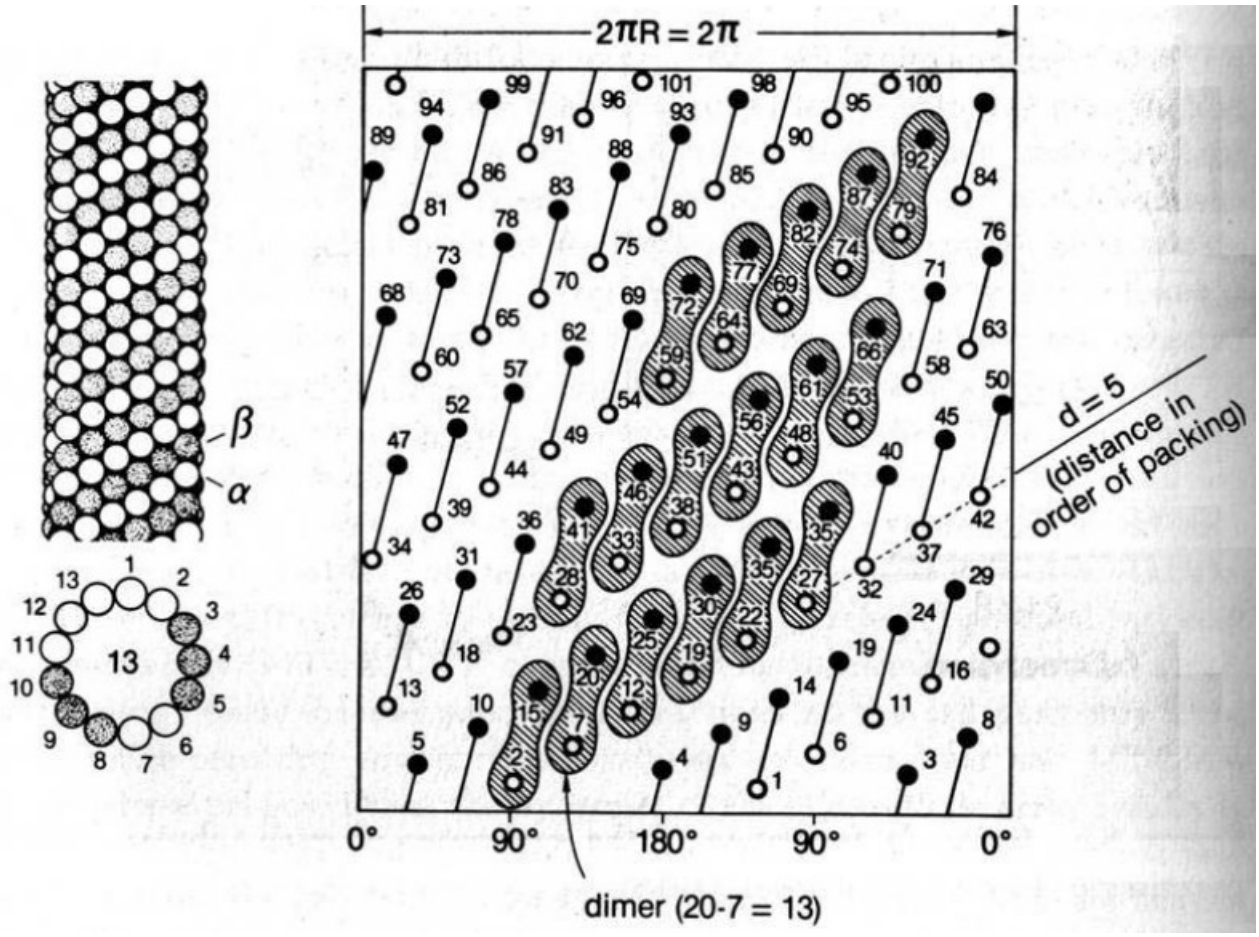


*Fig. 8.7: Simetria șurubului lui Koruga și unitatea optimă de informație în peretele de rețea al microtubului. Cu permisiunea lui Djuro Koruga (1986).*

## 8.2.12. Autofocalizarea citoscheletală/Del Giudice

După cum este descris în capitolul 6, un grup de oameni de știință de la Universitatea din Milano au aplicat instrumentele matematice ale „problemelor cu mai multe corpuri" activităților dipolilor biomoleculari. Del Giudice, Doglia, Milani și Vitiello (1985, 1982) au folosit teoria câmpurilor cuantice pentru a descrie starea *electret* a sistemelor biologice (apa ordonată care înconjoară biomoleculele liniare) și au determinat că există o probabilitate mare pentru propagarea undelor asemănătoare particulelor în biomolecule. În plus, ordonarea apei ar trebui să conducă la autocentrarea energiei electromagnetice în fascicule filamentoase excluse de simetria ordonată. Pentru citoplasma ordonată, ei calculează diametrul pentru confinanța și propagarea undelor asemănătoare particulelor (bosoni fără masă sau solitoni) în biomolecule ca fiind de aproximativ 15 nanometri, exact diametrul interior al microtubulilor.

Propunerea grupului din Milano are o serie de implicații. Confinarea în regiuni filamentoase excluse din apă ar favoriza propagarea energiei electromagnetice în sistemele biologice și ar oferi un mecanism pentru aliniere și comunicare („trucul cu frânghia indiană"). În plus, polimerii cito scheletici pot fi capabili să capteze și să utilizeze energie electromagnetică ambientală sau generată biologic. Un posibil exemplu este energia infraroșie care este generată în mod obișnuit de dipolii din moleculele biologice. Se crede în general că această energie se disipă în căldură în interiorul citoplasmei apoase, totuși „autocentrarea" ar putea utiliza această energie în mod productiv într-un mediu comunicativ. Modelul din Milano include, de asemenea, generarea forței laterale prin energia focalizată în filamentele cito scheletice, ceea ce ar fi util în manevrarea și comunicarea biomoleculară.

## 8.2.13. MT Automatizare, Holografie/Hameroff, Watt, Smith

Se consideră că autofocalizarea energiei electromagnetice descrisă de grupul Milan are loc prin creșterea indicelui de refracție al citoplasmei indusă de un electret. Un concept similar a fost propus (Hameroff, 1974) în care microtubulii ar acționa ca „ghiduri de undă dielectrice” pentru fotonii electromagnetici. Țesuturile vii transmit lumina mai ușor decât materialele neviabile. Van Brunt, Shepherd, Wall, Ganong și Clegg (1964) au măsurat pătrunderea luminii solare în creierul mamiferelor prin alte căi decât sistemul vizual. Fotoreceptorii plasați stereotactic au înregistrat intensități de $10^{-3}$ lumeni în hipotalamusul de oaie atunci când intensitatea la suprafață era de 0,4 lumeni, cu o scădere logaritmică. Zonele cele mai permeabile la lumină se aflau în regiunile temporale ale craniului, lateral de orbite; polii temporali ai creierului și hipocampul primeau intensitatea maximă a luminii. Atunci când animalele au fost sacrificate, penetrarea luminii în hipotalamus a rămas constantă timp de aproximativ 30 de minute, după care opacitatea creierului a crescut brusc. Acest lucru sugerează că o anumită proprietate a țesutului cerebral viu este relativ translucidă pentru fotonii optici; MT polimerizat care acționează ca ghiduri de undă poate fi o astfel de proprietate.

Hameroff (1974) a propus, de asemenea, că matricea periodică a subunităților MT "scurgea", sau difracta energie cu o periodicitate de 8 nanometri, rezultând o sursă de energie "coerentă" (sau ioni de calciu) din fiecare MT. Interferența citoplasmatică a surselor coerente dintre multiple MT ar duce la imagini holografice în citoplasmă. Cuplarea concentrațiilor de calciu la stările sol-gel citoplasmatice ar putea "hard-coda" modelele holografice în rețeaua microtrabeculară. În șiruri paralele de MT în fibrele nervoase, potențialele gradate sau potențialele de acțiune care călătoresc au fost considerate că activează colectiv "planuri" de citoplasmă perpendiculare pe axa lungă a MT și a fibrelor nervoase. Aceste planuri care călătoresc pot fi comparate cu ecrane de imagine ca în televizoare. Într-un tub de imagine al unui televizor, ecranul este nemișcat și fasciculele de electroni se mișcă pentru a crea o imagine prin intersecția lor cu ecranul. Poate că imagistica în neuroni are loc pe ecrane călătoare generate de potențialele de acțiune care se deplasează prin șiruri MT paralele. Conținutul unor astfel de imagini ar depinde de mecanismele de programare din conformația subunităților de tubulină care alcătuiesc pereții MT și care se actualizează cu fiecare potențial de acțiune succesiv. Hameroff și Watt (1982) au descris o metodă de programare a tubulinei MT în care purtătorii de sarcină (ioni de calciu, electrosolitonii) sau undele conformaționale, cum ar fi fononii sau solitonii, au fost direcționați prin rețelele MT de către tubuline genetic sau citoplasmatic programate și site-uri specifice de legare MAP. Podurile MAP către alte MT, citoschelet sau alte organite au fost considerate că acționează ca "scurgeri" sau "surse" care transmiteau trenuri de impulsuri de sarcină/conformație între MT în întregul citoschelet ca un mediu de reglementare și comunicare. Hameroff și Watt (1982, 1983) au asemănat MT cu microprocesoare în care comutarea într-o "matrice booleană" a fost determinată de factori de programare intrinseci subunităților de tubulină (Figura 8.9).

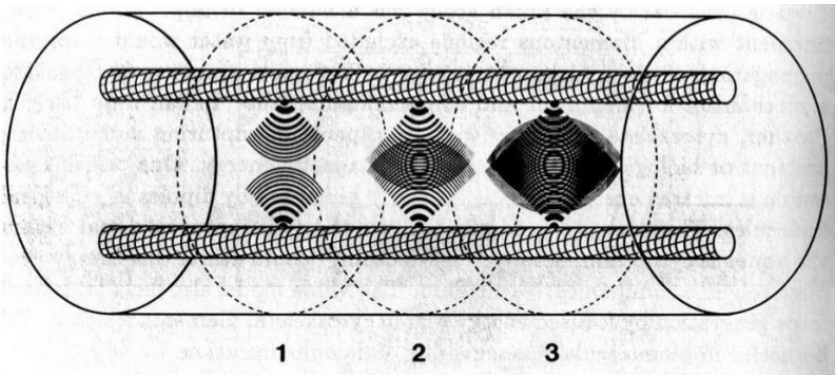


*Fig. 8.8: Modelele de interferență din citoplasmă cauzate de unde coerente (de exemplu, Ca++, starea sol-gel, MTL) generate de activitățile dinamice din microtubuli pot constitui o bază pentru imagistica holografică a informațiilor.*

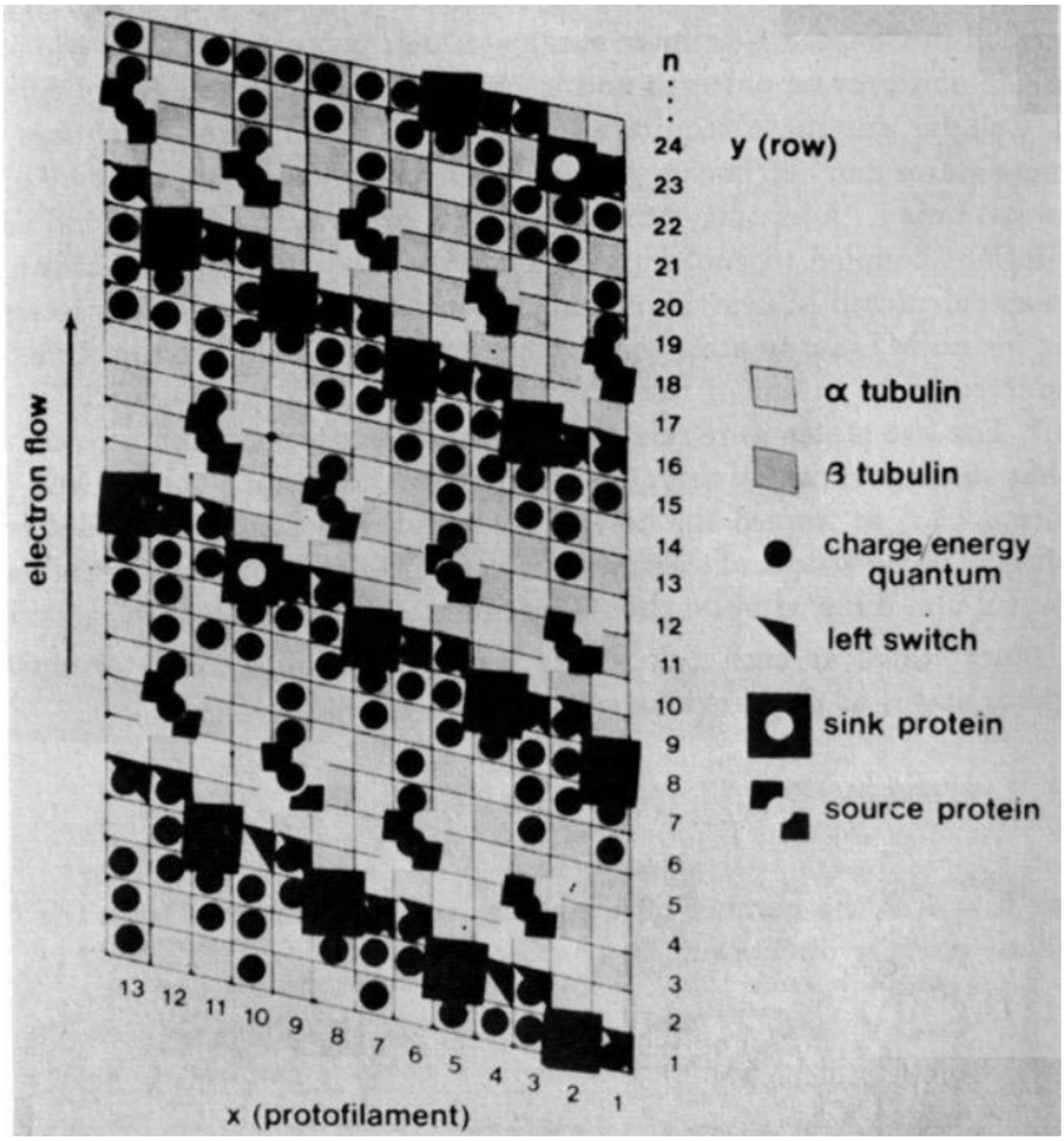


*Fig. 8.9: Matricea de comutare booleană în rețeaua de microtubuli, de la Hameroff și Watt (1982). Subunitățile de alfa și beta tubulină din peretele rețelei MT au fost considerate a fi ocupate tranzitoriu de cuante de sarcină/energie/conformare. MAP-urile s-au comportat ca „întrerupătoare la stânga" sau proteine «absorbante» sau „sursă". Secvențele și modelele de stări conformaționale au călătorit prin rețeaua MT și prin punțile inter-MT „sink" și „source" în întregul citoschelet, oarecum ca o mașină de pinball. Modelul a demonstrat o capacitate de „programare" de către tubulină-MAP a activităților dinamice legate de inteligența biologică*.

În lucrările ulterioare, Hameroff, Smith și Watt (1984, 1986) au utilizat principiile automatelor celulare pentru a explica procesarea informațiilor în MT. După cum este descris în Capitolul 1, automatele celulare sunt sisteme dinamice care pot genera și procesa modele și informații și sunt capabile de calcul. Automatele celulare necesită o structură de rețea de vecini "asemănători" cu stări discrete și reguli de vecinătate, și un "ceas" universal la care sunt sincronizați toți vecinii. Adoptând modelul lui Frohlich de oscilații dipolare coerente de nanosecunde cuplate la stări conformaționale ca mecanism de ceas, autorii au calculat interacțiunile dipolare Van der Waals ale vecinilor rețelei MT ca reguli pentru o simulare pe calculator a automatului MT. Fiecare dimer de tubulină a fost considerat a fi într-una din cele două stări posibile la fiecare "generație" de nanosecunde. Cele două stări au fost legate de conceptul lui Frohlich de oscilație dipolară, astfel

încât dipolul poate fi orientat fie către capătul alfa al tubulinei ("a", Figura 8.2.13), fie către capătul beta al tubulinei (reprezentat printr-un punct în Figură). Polaritatea şi comportamentul electret al MT indică faptul că, în starea de repaus, dipolii dimerilor de tubulină ar trebui să fie orientaţi către monomerul beta. Stările dimerilor la fiecare "tic-tac al ceasului" sau generație au fost determinate de stările vecinilor la generația anterioară.

$$state = \alpha, if \sum_{i=1}^{n} f(y) > 0, \quad state = \beta, if \sum_{i=1}^{n} f(y) < 0,$$

unde n = 7 reprezintă numărul de vecini, iar f(y) forţa exercitată de vecin în direcţia y.

$$f(y) \propto \frac{\sin\theta}{r^2}, \quad \sin\theta = \frac{y}{r}; \quad f(y) \propto \frac{y}{r^3}.$$

Starea dipolară a oricărui dimer specific la fiecare tact depinde astfel de suma stărilor dipolare ale vecinilor dimerului (inclusiv a propriei sale stări) la tactul anterior. Influenţele vecinilor sunt inegale din cauza simetriei elicoidale a reţelei MT. Dimerii distanţi (la mai mult de un vecin distanţă) ar trebui să aibă o influenţă mică din cauza scăderii intensităţii forţei ($y/r^3$) cu distanţa. Cu toate acestea, influenţele colective de la mulţi dimeri orientaţi „similar” ar putea duce la cooperativitate pe distanţe lungi. Folosind doar influenţele vecinilor apropiaţi, simularea pe calculator a unui automat MT a dat modele şi comportamente interesante ale stărilor dipolare/conformaţionale. Acestea au inclus atât modele interactive stabile, cât şi călătoare, capabile de calcul şi de reglare a activităţilor citoscheletice. De exemplu, Figura 8.13 arată un model asemănător unui „nod” care călătoreşte printr-o reţea MT, lăsând o „urmă” modificată sau memorie. Presupunând generaţii de nanosecunde, aceste modele călătoare ar călători cu 8 nanometri pe nanosecundă (80 de metri pe secundă), o viteză compatibilă cu propagarea potenţialelor de acţiune sau a solitonilor. Variabilitatea în izozimele individuale ale dimerului de tubulină, legarea ligandului sau ataşamentele MAP ar putea „programa” şi „citi” informaţii în funcţiile celulare de rutină. Ca un exemplu, propagarea modelelor conformaţionale MT ar putea coordona activităţile braţelor laterale MAP contractile în transportul axoplasmic. Într-un sens general, automatele MT pot fi substratul informaţional pentru activităţile biologice, de la curbarea cililor la conştiinţa umană. Modelele automate specifice distribuite în volume mari de matrice citoscheletice în interiorul creierului ar putea duce la rezonanţă cooperativă şi efecte colective, rezultând un gând sau o idee similară modului în care tranziţiile de fază induse de coerenţă în metale dau naştere proprietăţilor colective emergente, cum ar fi superconductivitatea.

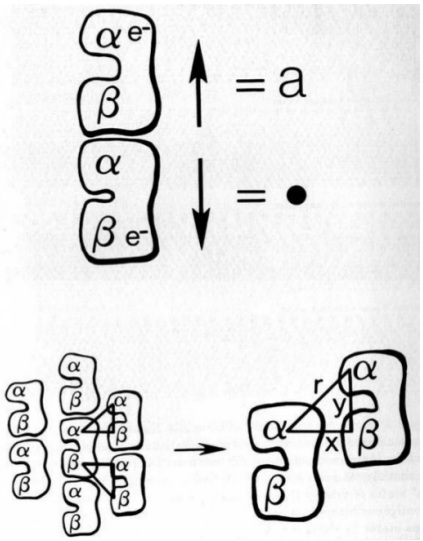

*Fig. 8.10: Sus: Subunități dimer MT-tubulină formate din monomerii a și b. Ocuparea electronică relativă a oricăruia dintre monomeri poate fi corelată cu oscilațiile coerente ale dipolului în domeniul temporal al nanosecundelor. Jos: împachetarea hexagonală cu simetrie de șurub conduce la reguli de vecinătate inegale bazate pe distanțele de rețea și interacțiunile dipolare Van der Waals. Pentru dimerii prezentați la dreapta, x = 5 nm, y = 4 nm, r = 6,4 nm. Puterea relativă a fiecărei stări dipolare a dimerului vecin este $y/r^3$.*

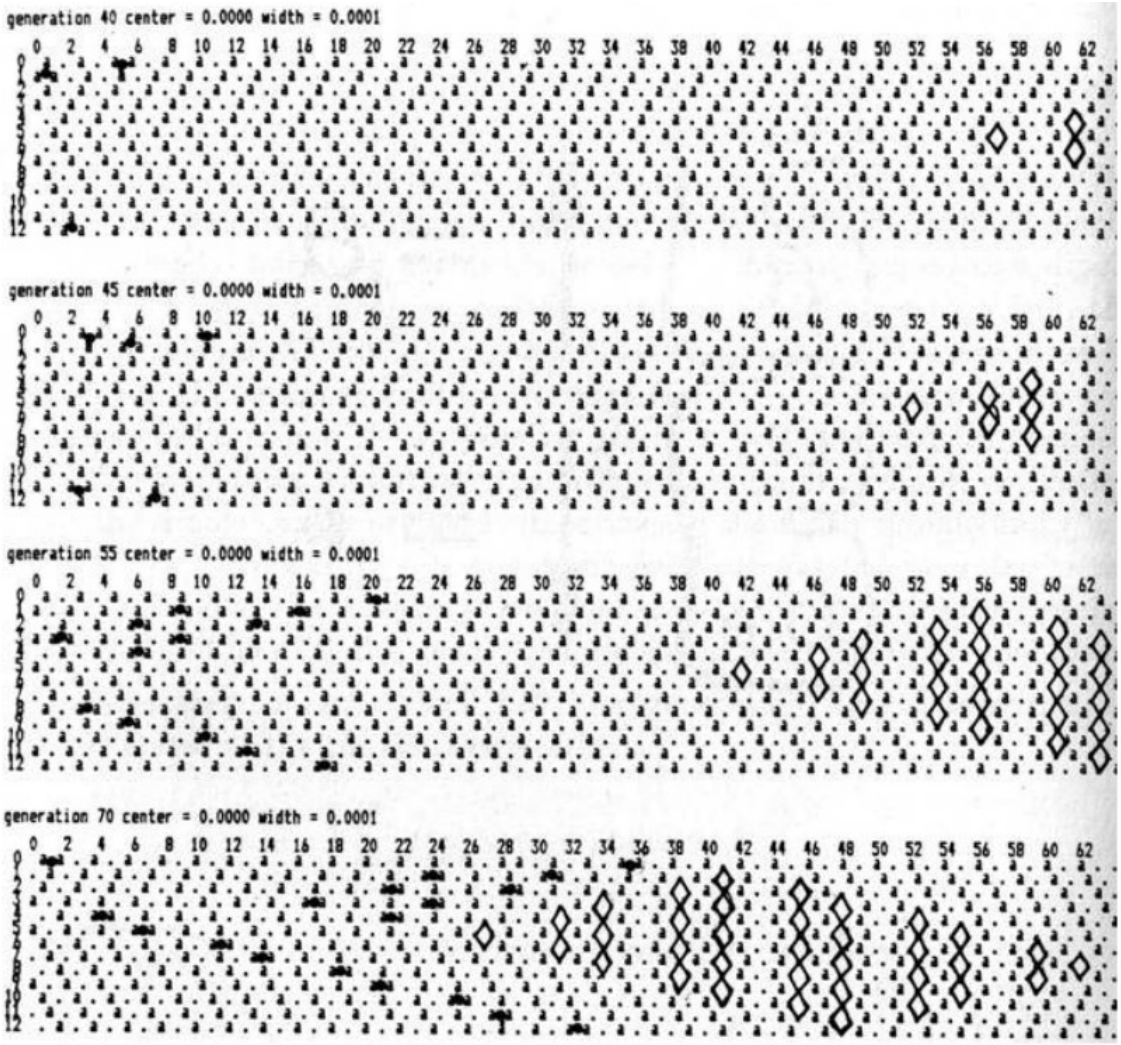


*Fig. 8.11: 30 de „nanosecunde” de simulare computerizată a automatului celular MT pe baza oscilațiilor coerente Fröhlich și a regulilor de vecinătate a subunităților de tubulină bazate pe interacțiunile dipol-dipol. 13 protofilamente sunt dispuse orizontal, 64 de rânduri sunt reprezentate vertical, rezultând o rețea MT plată. Stările „alfa” ale tubulinei (figura 8.10) sunt reprezentate de litera „a”, iar stările beta de un punct. 4 stări beta contigue sunt evidențiate prin modele de romburi, 4 stări alfa contigue prin puncte întunecate. Secvența de simulare (generațiile 40, 45, 55 și 70) arată mișcarea modelelor la o viteză de 80 nanometri pe nanosecundă (80 metri pe secundă). Cu permisiunea lui Hameroff, Smith și Watt (1984).*

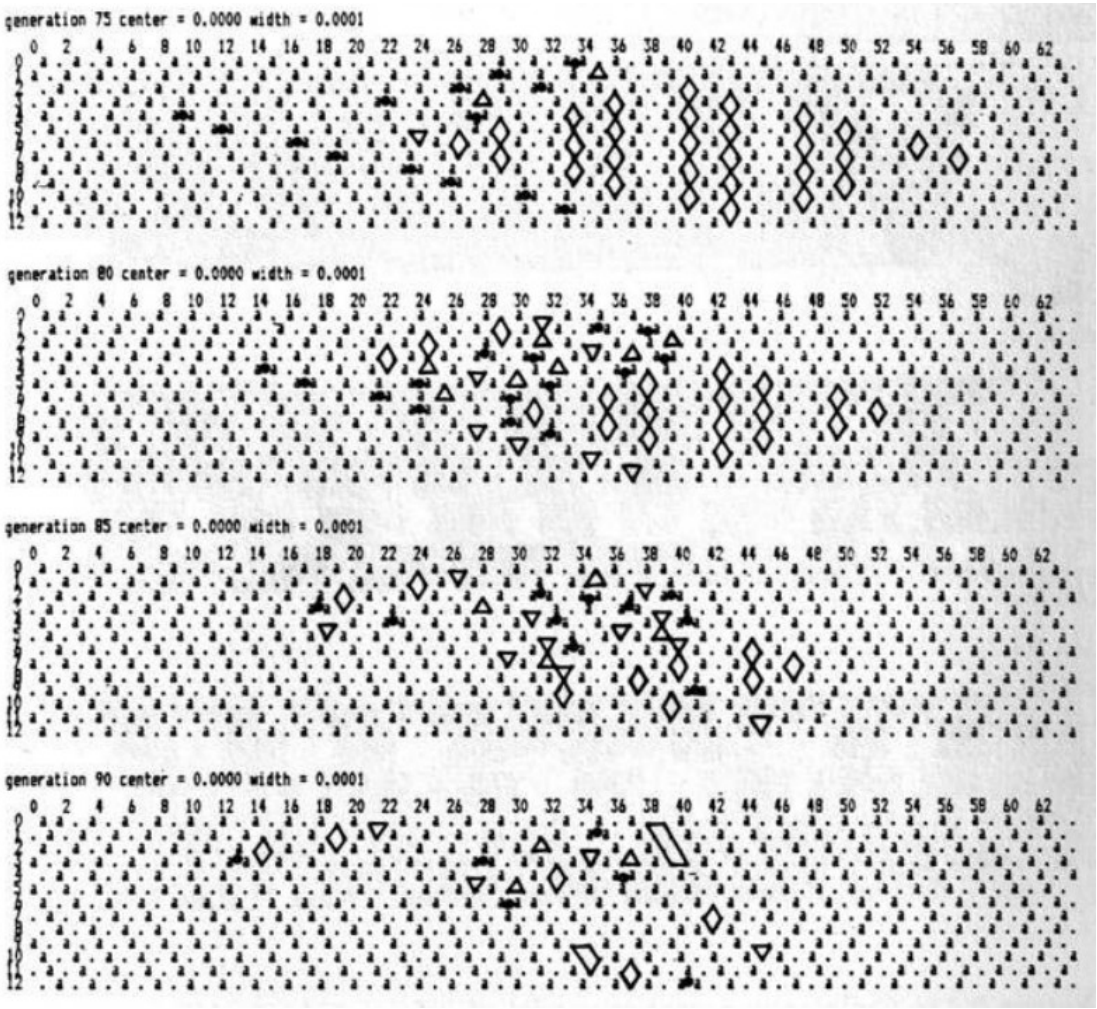


*Fig. 8.12: Continuarea secvenţei automatelor celulare MT din figura 8.11. Modelele alfa şi beta se ciocnesc şi generează forme bizare, lăsând configuraţia modificată faţă de starea iniţială. Astfel de interacţiuni ar putea reprezenta „calculul" şi „memoria" rudimentare. Cu permisiunea lui Hameroff, Smith şi Watt (1984).*

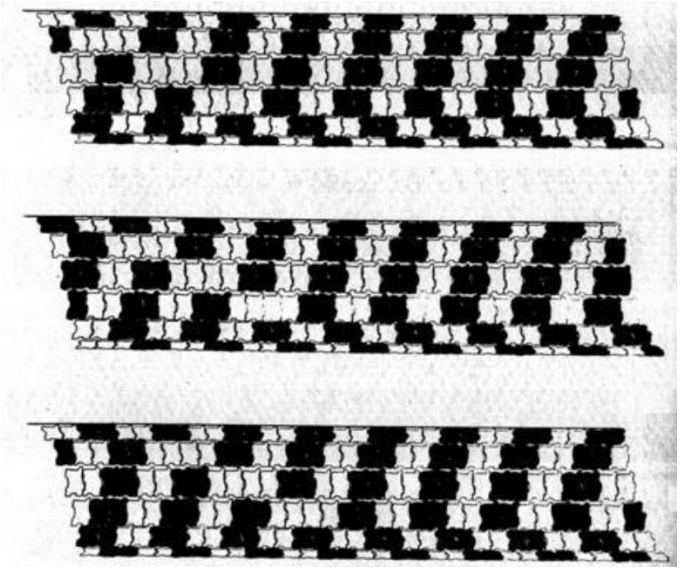

*Fig. 8.13: Model de automaton celular al procesării informaţiilor în microtubuli. Un model „kink-like" se deplasează de la stânga la dreapta. De la Hameroff, Smith şi Watt (1984, 1986).*

## 8.3. Conexiunea citoscheletală

Microtubulii, centriolii şi citoscheletul au evoluat pentru a prelua comanda biologiei. Având dimensiunea potrivită şi mişcându-se în intervalul de timp potrivit, ele par capabile să utilizeze multe forme de energie disponibilă. Polaritatea MT, structura periodică şi reţeaua elicoidală de subunităţi programabile conformaţional le califică drept „computere finale” şi nanomotori, generând forţă şi mişcare intenţionate. Ele pot capta şi focaliza singure radiaţiile electromagnetice, pot induce coerenţă şi pot propaga cuante de energie cu pierderi minime. Propagarea se poate manifesta sub formă de unde de polarizare coerente, descrise de Fröhlich, bosoni fără masă, descrişi de Del Giudice sau solitoni, descrişi de Davydov. Undele de densitate de sarcină sau transferul de protoni la straturile de suprafaţă MT ale apei ordonate şi contra-ionii încărcaţi pozitiv, cum ar fi calciul, sunt alte moduri posibile disponibile pentru transferul de informaţii şi energie bazat pe citoschelet.

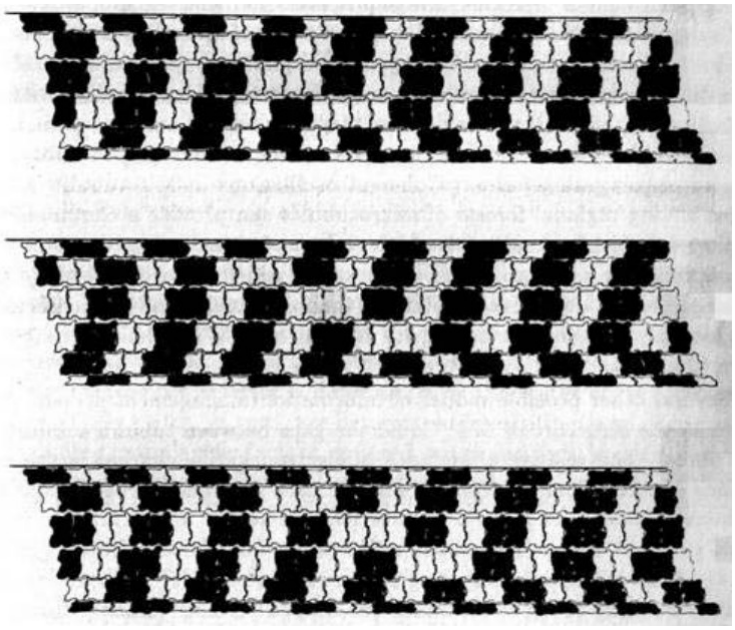

*Fig. 8.14: Modelul „Kink-like” continuă de la stânga la dreapta prin automatul MT. Astfel de modele dinamice pot reprezenta şi calcula informaţii, pot servi ca locuri de legare pentru moleculele transportate, pot desemna locuri de fixare a punţilor MAP şi inter MT sau pot genera valuri coerente de stări sol-gel cuplate cu calciu*.

Excesele de electroni MT apar din cauza abundenţei de aminoacizi acizi. Cu polaritatea intrinsecă a fiecărei subunităţi dimere de tubulină, MT se află într-un câmp polar puternic sau "electret" care posedă proprietăţi piezoelectrice. Fiecare subunitate MT poate astfel să "integreze", fiind capabilă să absoarbă şi să detecteze inputuri sub formă de energie acustică, fotoni optici, ATP chimic, modificări ale potenţialului, fluxuri de calciu şi alţi ioni, şi să răspundă cu modificări conformaţionale în consecinţă. Fiecare subunitate din cadrul unei reţele microtubulare nu poate doar reprezenta informaţii, ci poate introduce şi scoate informaţii într-un automat continuu. Oscilaţiile coerente în stările subunităţilor de tubulină MT în cadrul pădurilor regionale de microtubuli pot oferi un mediu de comunicare în care orice subunităţi care sunt în afara fazei induc unde de decuplare de fază de-a lungul structurii MT. Modificările care perturbă coerenţa ar putea fi amplificate de oscilaţiile colective în cadrul macroasamblărilor citoscheletice, cum ar fi centriolii rotativi sau structurile de tensegritate ale MT înfăşurate de filamente de actină contractile.

Mai multe alte moduri posibile de gestionare a informaţiilor se prezintă în structura MT. Ar putea golurile dintre subunităţile de tubulină să acţioneze ca pori? Abundenţa relativă a sarcinilor electronegative pe suprafaţa exterioară a microtubulilor cilindrici poate crea gradiente de-a lungul pereţilor tubulilor dacă interiorul MT este neutru sau pozitiv. În prezent, nemăsurabil, chiar şi un gradient mic de-a lungul pereţilor MT de 4 nanometri ar cuprinde un câmp de tensiune semnificativ.

Astfel, un soliton propagat, o undă de densitate de sarcină sau o umflare osmotică tranzitorie a proceselor nervoase ar putea deschide "fisuri" printre subunităţile de tubulină pentru a permite fluxul de ioni sau radiaţia de energie electromagnetică focalizată şi captată în interiorul MT. Alternativ, un miez interior MT electronegativ ar putea susține sugestia lui Del Giudice privind superconductivitatea citoscheletală. Energia auto-focalizată care exercită forţă perpendiculară pe axa lungă a MT ar putea explica efecte misterioase, cum ar fi naşterea perpendiculară a centriolilor fiice şi a punţilor inter-MT MAP. Fluxurile de energie sau ioni radiaţi de la MT din cauza undelor de propagare ar fi coerente datorită periodicităţii spaţiale a golurilor dintre subunităţile de tubulină şi ar putea forma astfel baza interferenţei undelor coerente într-o hologramă tridimensională. Cuplate cu stările de calciu/gel-sol, citoplasma holografică poate fi o pânză "infoplasmică" pentru informaţii biologice dinamice.

În creier, aranjamentele extrem de paralele ale proteinelor cito scheletice în interiorul axonilor şi dendritelor asimetrice sugerează analogii cu calculul paralel. Propagarea potenţialelor de acţiune sau a undelor de depolarizare dendritică ar putea induce secvenţe de modificări ale stărilor subunităţilor MT datorită influxului de calciu, modificării câmpurilor electrice sau efectelor mecanice directe, pe măsură ce sodiul şi apa umflă tranzitoriu procesul nervos. Semnalele pot reverbera cooperativ în întregul citoschelet prin unde de eliberare şi captare a calciului, mecanosolitoane/electrosolitoane care se propagă prin reţeaua citoscheletică şi/sau propagarea laterală prin braţe laterale şi alte componente ale reţelei cito scheletice. Fluxurile tranzitorii de calciu care rezultă din undele conformaţionale care se propagă în josul reţelelor citoscheletice în paralel cu potenţialele de acţiune sau undele de curent dendritic pot duce la cadre de imagini dinamice în mişcare. Secvenţele de cadre de imagini care călătoresc prin citoplasma holografică şi se modifică cu fiecare descărcare nervoasă pot fi colectiv „Ochiul Minţii”, „granula imprimată”.

Modelul actual prevalent al funcţiei creierului este „reţeaua neuronală”, un sistem dinamic colectiv a cărui ieşire este determinată de stările sinapselor neuronale componente. La rândul său, starea fiecărei sinapse este determinată de alţi neuroni modulaţi de efectele dinamice colective ale cito scheletului interneuronal. La rândul său, cito scheletul este un sistem dinamic colectiv a cărui activitate netă este determinată de stările subunităţilor sale componente. Stările lor, la rândul lor, sunt determinate de un alt nivel de organizare, incluzând factori citoplasmatici, apă şi ioni ordonaţi, izozimi genetice ale subunităţilor individuale şi elemente cito scheletice de nivel inferior, cum ar fi reţeaua microtrabeculară. Fiecare subunitate cito scheletică este un calculator capabil să integreze intrări multiple într-o stare specifică de ieşire. Procesele cognitive care au fost atribuite unui concept de reţea neuronală pot fi, astfel, interpretate mai precis ca o ierarhie fractală de sisteme dinamice care sunt extrem de paralele, extrem de interconectate şi cu capacitate crescândă pe măsură ce devin mai microscopice. Efectele colective pot apărea la fiecare nivel şi la niveluri succesiv mai macroscopice. Efectul net poate fi conştiinţa.

Microtubulii şi citoscheletul şi-au creat un loc în istoria evoluţiei prin rezolvarea problemelor, deplasarea organitelor, organizarea celulară şi circuitele inteligente. Unde vor ajunge de acum înainte?

# 9. Virușii/forme de viață ambigue

## 9.1. Care este esența materiei vii?

Oparin (1938) a propus ca materia vie să fie definită ca având următoarele proprietăți: metabolism, auto-reproducere și mutabilitate. Eigen (1971) a observat că aceste criterii ar putea fi îndeplinite de entități hotărât nebiologice, cum ar fi „automatele autoreproducătoare" ale lui von Neumann sau diverși roboți. Chiar și unele sisteme biologice simple sunt oarecum ambigue în ceea ce privește statutul lor „asemănător vieții". Sistemele primitive care estompează distincția dintre animat și inanimat includ virușii, prionii (cristale proteice care pot fi agenți cauzali în unele boli umane) și proteinoidele (ansambluri proteice autoorganizate) implicate în originile vieții (Fox, 1972). Elementele citoscheletice independente au, de asemenea, caracteristici de „viață". Microtubulii alunecoși pe care R. D. Allen și colegii săi (1985) i-au izolat din axoplasma calmarului se deplasează, evită coliziunile și au un simț al direcției. Sunt ei vii? În cazul în care tehnologiile viitoare conduc la automate replicante la scară nanometrică, distincția dintre entitățile vii și cele nevii va fi și mai neclară.

## 9.2 Comportamentul (greșit) al virușilor

Printre cele mai elementare varietăți de viață se numără virușii. Structura și activitățile simple ale acestora au provocat întrebări dacă acestea sunt de fapt „vii" sau sunt doar roboți chimici care se înmulțesc și locuiesc în organisme cu adevărat vii. Virușii se formează spontan, subunitățile lor simple asamblându-se în structuri tridimensionale complexe. Procesul de asamblare, determinat de creșterea stabilității sau de scăderea energiei virusului finalizat, contravine celei de-a doua legi a termodinamicii, care prevede că ordinea duce la dezordine. Datele obținute de la virusul mozaic al tutunului (capitolul 6) arată că interacțiunile hidrofobe care exclud apa din subunitățile neasamblate contrabalansează creșterea ordinii (entropie negativă) a virusului asamblat.

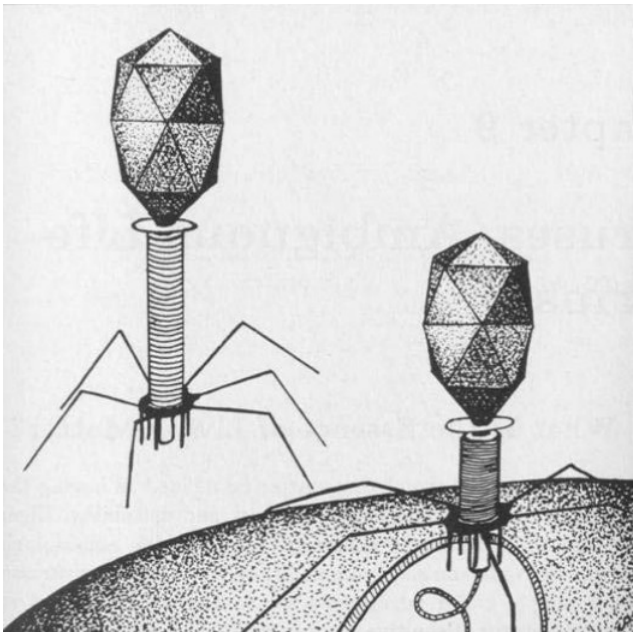

*Figura 9.1: Aterizarea virusului fag și injectarea materialului genetic în celula gazdă. Gulerul cilindric suferă o contracție conformațională colectivă asociată cu injectarea. De Paul Jablonka*.

În general, virușii intră în celule și piratează mașinăria lor genetică pentru a provoca multiplicarea virusului; apoi evadează pentru a începe un alt ciclu. Unii viruși rămân liniștiți și inofensivi în celulele gazdă pentru perioade extrem de lungi de timp, în timp ce șederea altor viruși implică rechiziționarea totală a mecanismului celular și poate avea consecințe extrem de dăunătoare

pentru gazdă. Bolile umane induse de viruși variază de la răceli banale și gripă până la varicelă, rujeolă, hepatită, poliomielită și boli mortale precum variola, rabia, febra galbenă, cancer și sindromul imunodeficienței dobândite („SIDA”). Unele boli virale, cum ar fi variola, au fost controlate de medicina modernă, dar altele, cum ar fi SIDA, rămân amenințări semnificative la adresa sănătății umane.

Odată asamblați în interiorul unei celule gazdă, virușii pot scăpa în mai multe moduri. Una dintre căi constă în provocarea morții și dezintegrării celulei gazdă, permițând virușilor nou formați să se răspândească și să transporte infecția în altă parte. Virușii care sunt acoperiți de membrane lipidice pot scăpa, de asemenea, prin „înmugurire” sau endocitoză inversă („pinocitoză”), un mecanism similar cu secreția sau extrusionarea veziculelor neurotransmițătoare din butonii sinaptici.

O subclasă importantă de virusuri sunt retrovirusurile care conțin ARN fără ADN. Atunci când ajunge într-o celulă gazdă, retrovirusul aduce o enzimă cunoscută sub numele de transcriptază inversă care convertește ARN-ul monocatenar al virusului într-o copie ADN bicatenară. Acest lucru permite virusului să rechiziționeze mașinăria genetică a celulei gazdă. Printre retrovirusurile umane se numără HTLV-III (sau „HIV”), purtătorul SIDA.

## 9.3 Structura virusului și oscilațiile colective

Structura virusului include până la trei componente majore: materialul genetic (fie ADN, fie ARN), un înveliș proteic care înconjoară materialul genetic și o membrană (figurile 9.1 - 9.3). Un exemplu de înveliș proteic viral este rețeaua cilindrică similară structurii microtubulilor găsită în virusul mozaic al tutunului, primul virus izolat (de botanistul rus Dimitri Ivanovski la sfârșitul secolului al XIX-lea). În cazul adenovirusurilor, învelișul proteic este un icosaedru: un poligon cu 20 de laturi și 12 vârfuri. Învelișul proteic al virusului gripal este sferic și poate include glicoproteine care se extrudează spre exterior, înconjurate de membrane lipidice. O altă structură virală interesantă este cea a bacteriofagilor, care își injectează în mod activ ADN-ul în celulele bacteriene gazdă. Bacteriofagul arată oarecum ca un aterizator lunar la scară nanometrică și are un cap icosaedric montat de un guler pe o coadă cilindrică care, la rândul său, este susținută de o placă de bază care intră în contact cu suprafața unei celule bacteriene. La un stimul adecvat, învelișul proteinei virusului bacteriofag suferă un eveniment conformațional colectiv; contracția întregului ansamblu al cozii duce la injectarea activă a ADN-ului viral prin peretele celular bacterian și în citoplasma celulei bacteriene. Această secvență de evenimente necesită o comunicare coordonată și un răspuns activ și poate fi interpretată ca o inteligență rudimentară.

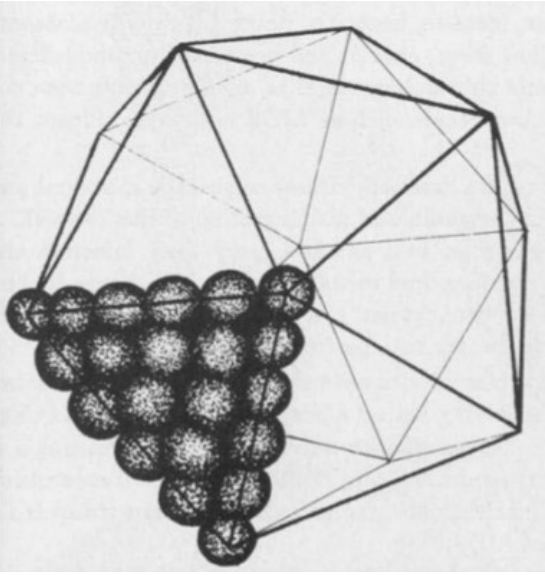

*Figura 9.2: Structura icosaedrică a învelișului proteic al unui adenovirus. De Paul Jablonka.*

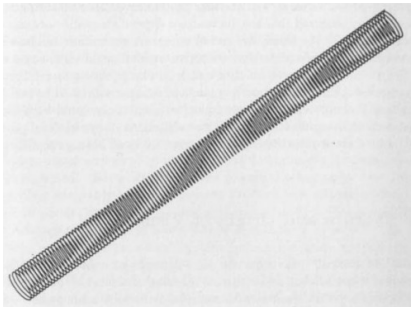

*Figura 9.3: Vedere longitudinală a traseului ADN într-o structură a virusului mozaic al tutunului. Calea are aproximativ 120 de rotații complete. De Paul Jablonka.*

Cum efectuează virușii acte cognitive precum detectarea suprafețelor celulelor gazdă și injectarea în acestea a acizilor lor nucleici? O posibilitate este reprezentată de perturbările vibrațiilor colective ale învelișurilor lor proteice. Michels, Schulz, Witz, Pfieffer și Hirth (1979) au măsurat absorbția ultrasonică a ansamblurilor de proteine într-un interval de $10^5$ până la $10^9$ oscilații pe secundă. Ei au constatat că structurile asamblate absorb mult mai multă energie ultrasonică decât subunitățile individuale nepolimerizate, sugerând o oscilație colectivă a ansamblului proteic. De exemplu, icosaedrul intact al virusului mozaic Brome a absorbit energie cu o frecvență medie de 5 x $10^7$ pe secundă. Robach, Michels, Cerf, Braunwald și Tripier-Darcy (1983) au găsit rezultate similare cu virusul broaștei și au determinat că amplitudinea deplasării oscilațiilor era de ordinul unei zecimi de nanometru. Majoritatea cercetărilor privind virusurile s-au axat pe capacitățile genetice ale ADN-ului sau ARN-ului viral în cooptarea activităților celulelor gazdă. Învelișurile proteice au fost considerate simple medii pentru transportul ADN-ului sau ARN-ului, însă acestea îndeplinesc funcții analoge citoplasmei organizate. De exemplu, vârfurile glicoproteice care se extind spre exterior de la unii virusi, rămânând în același timp ancorate la învelișul proteic, interacționează cu membrana gazdei și cu suprafețele peretelui celular pentru a facilita contactul și intrarea. Această activitate generală implică informații semnalate prin intermediul învelișului proteic care determină o schimbare conformațională mecanică. Michels, Dormoy, Cerf și Schulz (1985) au utilizat tehnici similare pentru a studia două tulpini ale virusului mozaic al tutunului, precum și alte ansambluri de proteine, inclusiv microtubuli. Ei au observat că fluctuațiile depind de organizarea și complexitatea specifică a ansamblului și că anumite ansambluri oscilează mai mult decât altele. Ei speculează că oscilațiile colective ale straturilor virale ar putea funcționa în funcții comunicative, cum ar fi injectarea acizilor nucleici virali în celulele gazdă. Virusurile îndeplinesc funcții limitate dedicate propriei lor replicări și supraviețuiri, dar oscilațiile lor colective ar putea fi un indiciu al esenței materiei vii. Oscilațiile colective ale proteinelor citoscheletale ar putea servi unui rol comunicativ mai versatil în toate celulele eucariote.

## 9.4 Natura și originea virușilor

A decide dacă virușii sunt sau nu vii depinde de o definiție a vieții. În cartea sa *Pirates of the Cell* (Piratii celulei), Scott (1985) concluzionează că viața este un spectru de la material animat la inanimat și că virușii se află undeva la mijloc. Unele caracteristici vitale ale lucrurilor vii includ locomoția, nutriția, creșterea, respirația, excreția, sensibilitatea și reproducerea. Conform acestor criterii, virușii nu sunt vii, însă materialele „inanimate”, cum ar fi cristalele, manifestă creștere, nutriție, reproducere și locomoție asemănătoare vieții. Definirea vieții prin capacitatea aparentă de a sfida a doua lege a termodinamicii (crearea ordinii din dezordine) prin asamblarea unei structuri biologice organizate complexe din lumea nevie dezordonată ignoră faptul că legea termodinamicii rămâne inviolabilă în general. Subunitățile proteice ale citoscheletului la nivel molecular sau particulele virale se asamblează în structuri mai ordonate, însă excluderea hidrofobă a apei din subunitățile proteice contracarează schimbarea entropiei, iar efectul net rămâne ordinea care trece la dezordine.

Există trei teorii generale cu privire la originea virușilor (Scott, 1985). Prima este că virușii au apărut foarte devreme în evoluție, înainte de apariția celulelor eucariote. Conform acestui punct de vedere, virușii moderni sunt descendenți direcți ai moleculelor primitive timpurii care plutesc în supa sau noroiul primordial (capitolul 3). A doua idee este că acestea derivă din paraziți care au invadat alte celule și au devenit treptat mai simple, de-evoluând pentru a fi total preocupați doar de supraviețuire și multiplicare. A treia idee, care domină convingerile actuale, este că virușii au evoluat din materialul genetic al vieții celulare: ipoteza „genei evadate”.

## 9.5 Virușii domesticiți

Capacitățile virușilor pot fi exploatate (Scott, 1985). Acum două sute de ani, Edward Jenner a început să dezvolte vaccinuri antivirale sigure și eficiente, o tehnică care amplifică sistemul imunitar al organismului. Slopek și colaboratorii săi (1983) au tratat pacienții afectați de o infecție bacteriană rezistentă la medicamente prin utilizarea de bacteriofagi virali selectați pentru eficiența lor împotriva organismului rezistent. Oamenii de știință britanici (Williams, Smith și Huggins, 1983) au utilizat bacteriofagi pentru tratarea infecțiilor intestinale la animale și s-a încercat, de asemenea, utilizarea directă a virușilor pentru combaterea infecțiilor bacteriene la om. Bacteriofagele prezintă avantaje potențiale față de medicamentele moderne: sunt foarte specifice, pot lăsa celulele gazdă nevătămate, cu efecte secundare minime, și ar putea fi produse la costuri reduse. Cu toate acestea, bacteriile ar putea dezvolta rezistențe la bacteriofagi, la fel ca la unele medicamente.

Alți cercetători au folosit virusuri exploatate pentru a produce în masă proteine naturale în „inginerie genetică”. De exemplu, virusul „Epstein-Barr” a fost utilizat pentru a transforma celule imunitare selectate, care apoi se înmulțesc și produc cantități mari de anticorpi specifici utili în medicină și industrie. În unele cazuri, virușii sunt transformați în forme noi pentru a fi utilizați ca vaccinuri vii. Genele organismelor gripale și ale hepatitei B pot fi combinate în genomul unui virus vaccin pentru a ne proteja împotriva unor boli precum hepatita B și gripa. Genurile care codifică proteinele paraziților, cum ar fi protozoarele care provoacă malaria, sunt adăugate la genomurile virale adecvate (Smith, 1984). Virusurile pot transfera gene străine în celulele bacteriene. Gena care codifică orice proteină dorită poate fi legată de materialul genetic al unui virus și, atunci când virusul infectează celulele bacteriene corespunzătoare, gena străină este transportată cu el. Odată intrată, gena transferată poate începe să dirijeze producerea unor cantități abundente din proteina pentru care codifică. Virusurile se transformă astfel în navete versatile care pot transporta o gamă întreagă de proteine în oameni și animale.

Alte posibilități interesante includ transferul de noi gene în celulele umane. Multe grupuri de cercetare, inclusiv Richard Mulligan și cohortele sale de la MIT (Kolata, et al., 1984), încearcă să construiască viruși care să transporte noi gene în celulele umane pentru a vindeca bolile genetice. O serie de boli ereditare ar putea fi astfel tratate prin manipulare genetică cu ajutorul bacteriofagilor. Un prim pas ar fi introducerea de către un retrovirus a unei gene terapeutice în ADN-ul celulelor deficitare în gena respectivă. Un domeniu promițător ar putea fi cel al bolilor celulelor sanguine care proliferează continuu. Idei conexe sunt utilizarea membranelor, a straturilor proteice ale virusurilor sau a altor proteine pentru a transporta medicamentele către destinații intracelulare cu țintă imunologică („glonțul magic”).

Din păcate, virusurile pot fi utilizate și ca arme diabolice, capabile să infecteze populații mari. Cu toate acestea, la fel ca alte „săbii cu două tăișuri” tehnologice, potențialul lor benefic este și mai mare. Nanotehnologia combinată cu ingineria genetică ar putea duce la crearea unor entități de tip virus care ar putea urmări și distruge agenții infecțioși letali, celulele maligne, plăcile aterosclerotice care obstrucționează vasele de sânge, țesutul cicatricial care limitează regenerarea nervilor, încurcăturile neurofibrilare asociate cu demența senilă și, probabil, alte boli. Viitorii „nanodoctori” asemănători virusurilor ar putea face vizite la domiciliu în celule.

# 10. Nanotehnologie

Comunicarea funcțională între biomolecule și dispozitivele tehnologice va necesita progrese spectaculoase în capacitatea noastră de a crea dispozitive logice din materie. Limita la care se poate ajunge pare a fi reprezentată de componentele de calculator structurate cu precizie la nivel atomic, de ordinul a 0,1-0,3 nanometri. Fabricarea la scară nanometrică a dispozitivelor informatice capabile de interfață biologică ar permite, de asemenea, construirea de roboți, senzori și mașini valoroase la scară nanometrică (Schneiker, 1986). Calculul final poate fi doar o singură fațetă a unei game largi de aplicații: "nanotehnologia".

## 10.1. Primii nanotehnologi

Societatea Americană de Fizică și-a ținut întâlnirea anuală din 1959 la Institutul de Tehnologie din California. A fost programat să vorbească un om care avea să câștige Premiul Nobel pentru fizică în 1965 pentru munca sa istorică în electrodinamica cuantică. Mai târziu, avea să facă parte dintr-o Comisie Prezidențială și să găsească cauza dezastrului Challenger într-o perioadă de timp tulburător de scurtă. În 1959, totuși, el a vorbit despre alte lucrări care ar putea fi chiar mai importante. În prelegerea sa intitulată *There's Plenty of Room at the Bottom* (Există mult loc la bază), fizicianul Richard Feynman (1961) a propus o strategie simplă și directă pentru construirea de structuri utile, cu dimensiuni de până la scara atomică! El a sugerat utilizarea sculelor mașini pentru a face multe alte seturi de scule mașini mult mai mici, care, la rândul lor, ar face de multe ori acel număr de alte scule mașini și mai mici, și așa mai departe. La cel mai scăzut nivel, el a menționat posibilitatea de a asambla mecanic molecule, câte un atom o dată. Feynman a propus construirea de nanomachine, nanoscule, computere mici, roboți la scară moleculară, materiale noi și alte produse exotice care ar avea aplicații și beneficii de mare anvergură. Având în vedere relevanța nanotehnologiei pentru moleculele vii, Feynman (1961) a remarcat,

> *Un sistem biologic poate fi extrem de mic ... . Luați în considerare posibilitatea ca și noi să putem face un lucru foarte mic, care face ceea ce vrem - că putem fabrica un obiect care manevrează la acel nivel*!

Mașinile capabile să manipuleze direct materia la scara submicronică sau nanometrică sunt denumite „mașini Feynman" (FM). Singurele FM existente cunoscute în prezent sunt biologice, însă FM controlate de calculator sau teleoperate pot implementa în viitor o gamă largă de aplicații nanotehnologice.

Urmând exemplul lui Feynman, alți oameni de știință s-au aplecat asupra nanotehnologiei. Von Hippel (1962) a prezis posibilități spectaculoase pentru știința materialelor în cazul în care s-ar putea realiza noi progrese în „proiectarea moleculară" și „ingineria moleculară" a materialelor. Observând eventuala posibilitate de reparare a țesuturilor umane (moleculă cu moleculă, dacă este necesar) în vederea prelungirii vieții, Ettinger (1964) a sugerat mecanisme de reparare pentru modificarea și interacțiunea cu organismele existente; ulterior, el a propus dezvoltarea nanoroboticii. Ettinger a imaginat organisme de curățare și de pază la scară nanometrică concepute pentru a imita și a depăși acțiunile globulelor albe care ar putea vâna și elimina invadatorii ostili sau dăunători (Ettinger, 1972). Astfel de nanoroboți ar putea fi utili pentru combaterea SIDA sau a cancerului, excavarea vaselor de sânge blocate sau îndreptarea încurcăturilor neurofibrilare din neuronii senili.

Shoulders (1965) a raportat funcționarea efectivă a micromanipulatoarelor capabile să poziționeze obiecte minuscule cu o precizie de 10 nm în timp ce se aflau sub observație directă prin microscopie cu ioni de câmp. Ellis (1962) a dezvoltat, de asemenea, micromanipulatoare similare (dar mult mai mari) și a propus construcția unor "microteleoperatori": *nanodevices* controlate de la distanță! Drexler (1981, 1986) a descris unele avantaje și pericole ipotetice ale nanotehnologiei. Capacitățile de asamblare atom cu atom și nanoinginerie ar putea duce la materiale și căi noi (Feynman, 1961). Un astfel de material este filmele de "carbon asemănător diamantului", care sunt

"transparente, izolatoare, chimic inerte, au o rezistenţă dielectrică ridicată, o aderenţă bună şi sunt relativ dure" (Aisenberg, 1984). Drexler sugerează că ciocane rotative de câteva molecule lungi ar putea fi folosite pentru a lovi atomii de carbon din grafit la un unghi şi o forţă potrivite pentru a crea filme şi fibre de diamant uşoare, utile într-o varietate de aplicaţii materiale. Drexler avertizează cu privire la două aspecte Frankenstein ale nanotehnologiei: supravegherea cu nanosenzori şi replicarea necontrolată a *nanodevicelor* cu consum de resurse ale biosferei. Cu toate acestea, dezvoltările existente şi dramatice în tehnologia microsenzorilor şi microelectronică fac ca îngrijorările cu privire la supravegherea cu nanosenzori să fie superflue (Schneiker, 1986). Schneiker, de asemenea, nu ia în considerare îngrijorările extreme ale lui Drexler despre "sfârşitul lumii" cu privire la nanoreplicatori, subliniind că abordarea Feynman (de sus în jos) a nanotehnologiei, microreplicatori şi alţi factori înlătură problema. Cu toate acestea, la fel ca ingineria genetică, energia nucleară, automobilul şi alimentele nesănătoase, nanotehnologia ar putea fi o "sabie cu două tăişuri" care necesită o gestionare responsabilă. Beneficiile potenţiale ale nanotehnologiei, care ar putea fi atinse în decurs de un deceniu sau doi, ar putea include (Schneiker, 1986):

> *... calculatoare mult mai rapide, mult mai puternice şi mai numeroase, cu memorii de capacitate extrem de mare, materiale compozite ultrarezistente, instrumente ştiinţifice mult îmbunătăţite, roboţi mobili microscopici şi sisteme de producţie flexibile automatizate, sisteme de replicare şi atingerea limitelor practice de miniaturizare şi a performanţei maxime în aproape toate domeniile tehnologice*.

În ciuda acestor speranţe şi previziuni nobile, nanotehnologia şi calculul molecular au rămas simple vise. Obstacolele în calea punerii lor în aplicare se concentrează pe absenţa maşinilor Feynman disponibile. O soluţie fezabilă a fost avansată de un nanotehnolog din zilele noastre, ale cărui contribuţii ar putea în cele din urmă să le eclipseze pe toate celelalte. Conrad Schneiker (1986) este posibil să fi găsit puntea către scara nanometrică. El prezice că capacităţile de manipulare la nivel atomic încorporate într-o invenţie din 1981, **microscopul cu efect de tunelare prin scanare** (STM), pot implementa maşini Feynman la scară nanometrică (Hansma şi Tersoff, 1987). Schneiker observase că, chiar şi fără STM şi înainte de inventarea acestuia, ar fi putut fi utilizată micromecanica siliciului combinată cu alte tehnologii. Nefiind mulţumit cu două abordări, el a propus şi o altă cale bazată pe tehnologia maşinilor-unelte augmentate, dezvoltată iniţial pentru maşinile cu diamant monocristalin. Dar STM-urile sunt mult mai convenabile şi mult mai puţin costisitoare.

## 10.2. Microscoape cu efect de tunel prin scanare (STM)

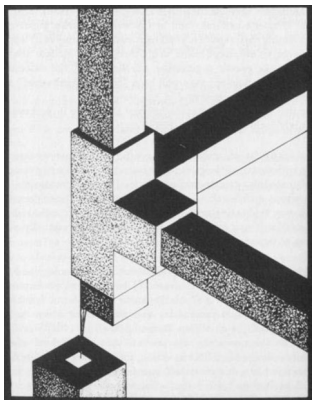

*Fig. 10.1: Microscopia de scanare cu efect tunel (STM) depinde de mişcarea ultraprecisă, dar rapidă a unui vârf ascuţit, cu un singur atom, pe o suprafaţă. Mişcarea este controlată de braţe piezoceramice de direcţie X-Y-Z care se deplasează fracţiuni de nanometri ca răspuns la variaţiile de tensiune. De Paul Jablonka (Schneiker şi Hameroff, 1987).*

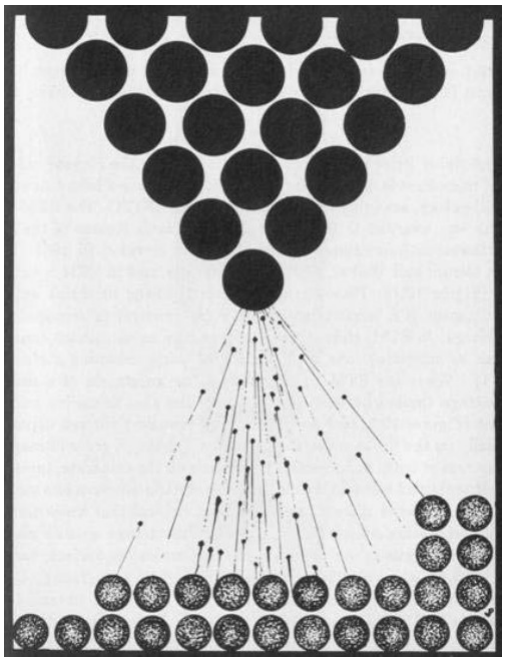

*Fig. 10.2: Vedere la scară nanometrică a substratului pentru tunelarea electronică a vârfului STM. De Paul Jablonka (Schneiker şi Hameroff, 1987).*

| Modul Număr | I | II | III | IV |
|---|---|---|---|---|
| Cantitatea menţinută constantă | i, v | h,v | h, i | h, i, v |
| Cantitatea măsurată | h | i | v | i/v |

*Tabelul 10-1: Moduri de funcţionare STM; i, v, h reprezintă curentul de tunelare, tensiunea şi, respectiv, înălţimea (distanţa dintre vârf şi suprafaţa probei) (Schneiker, 1986).*

Premiul Nobel pentru Fizică din 1986 a fost împărţit între abundenţa de microcunoştinţe. de 50 de ani, microscopul electronic, şi o tehnologie nou-nouţă, neîmplinită, **microscopia de tunelare prin scanare** (STM). Jumătate din Premiul STM a fost acordat lui Gerd Binnig şi Heinrich Rohrer de la Laboratoarele de Cercetare IBM Zurich, unde STM a fost inventat în 1981 (Binnig, Rohrer, Gerber şi Weibel, 1982). Principiul utilizat în STM este extrem de simplu (Figura 10.1). Materialele piezoceramice se extind sau se contractă pe distanţe extrem de mici (adică angstromi, sau zecimi de nanometri) ca răspuns la tensiunea aplicată. În STM, suporturile piezoceramice scanează un vârf conductor ultra-ascuţit (cum ar fi tungstenul) peste o suprafaţă conductoare sau semiconductoare (Figura 10.1). Când vârful STM este la câţiva angstromi de o suprafaţă, o tensiune mică aplicată între cele două generează un curent de tunelare de electroni (Figurile 10.2, 10.3 şi 10.4). Curentul de tunelare depinde exponenţial de separarea vârf-substrat (aproximativ o ordine de mărime per angstrom sau zecime de nanometru). În funcţie de substrat, curenţii şi tensiunile tipice de tunelare sunt de ordinul nano-amperilor şi milivolţilor, respectiv. Un sistem servo foloseşte un control de feedback care menţine constantă separarea vârf-substrat prin modularea tensiunii peste un sistem de poziţionare piezoelectric. Pe măsură ce vârful este scanat pe suprafaţă, variaţiile acestei tensiuni, atunci când sunt reprezentate grafic, corespund topografiei suprafeţei. Au fost obţinute hărţi detaliate ale topografiei suprafeţei a diferitelor materiale care demonstrează atomi individuali ca pietre de pavaj. Prin varierea şi măsurarea diferitelor combinaţii de curent de tunelare, tensiune şi distanţă, pot fi obţinute diferite tipuri de informaţii despre suprafaţa sondată.

Modurile de funcţionare de bază ale unui STM, descrise de Hansma şi Tersoff (1987), sunt rezumate în Tabelul 10.1. Aici i, v şi h sunt curentul de tunelare, tensiunea peste gol şi respectiv dimensiunea golului. Modul I este utilizat pentru a măsura topografia suprafeţei unui metal sau

semiconductor și este cel mai lent mod, deoarece sistemul servo electro-mecanic trebuie să urmeze forma suprafeței în timpul operației de scanare.

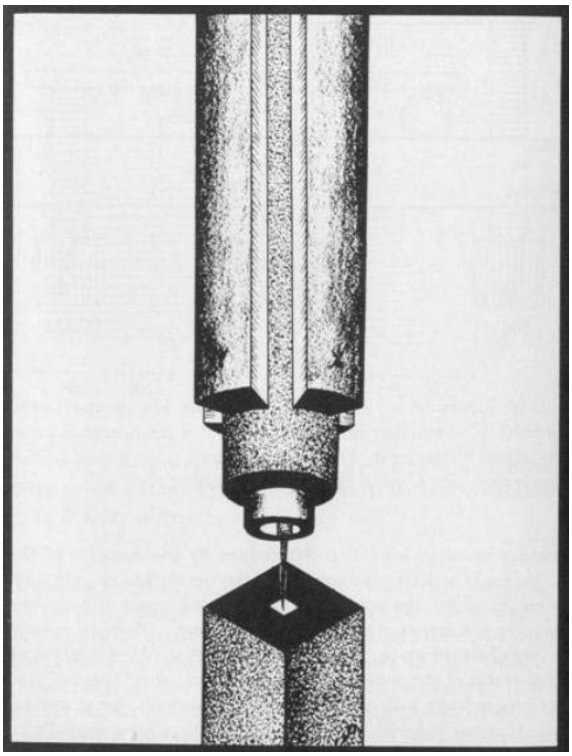

*Fig. 10.3: Mișcarea multidirecțională a vârfului STM poate fi controlată de un singur scaner piezotub de Paul Jablonka (Schneiker și Hameroff, 1987).*

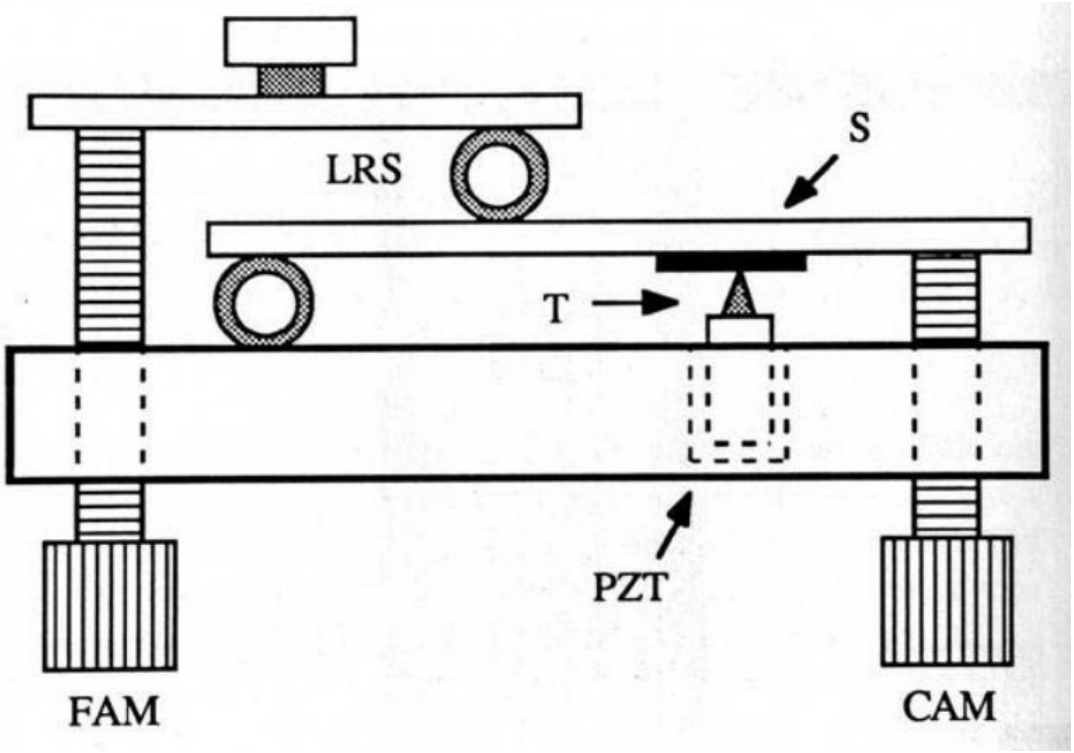


*Fig. 10.4: Schema STM de la Tunneling Microscope Corporation (Doug Smith). T = vârf, S = etaj de eșantionare, PZT = tub piezoceramic, CAM = micrometru de reglare grosieră, FAM = micrometru de reglare fină, LRS = sistem de reducere cu pârghie. De Conrad Schneiker (Schneiker, 1986).*

Viteza de scanare în modul I este determinată de răspunsul servosistemului. Modurile II şi III sunt mai rapide deoarece vârful menţine doar o înălţime medie constantă deasupra suprafeţei. Viteza de scanare în aceste moduri este determinată doar de răspunsul preamplificatorului. Modul IV măsoară densitatea comună de stări care, pentru un vârf mic, este o hartă a distribuţiei locale a stărilor electronice ale substratului. Pentru acest mod, tensiunea de polarizare vârf-substrat este „atenuată” cu un mic semnal de curent alternativ şi se monitorizează i/v. Folosind acest mod, Smith şi Quate (1986) au realizat spectroscopie de tunelare cu rezoluţie spaţială şi au observat unde de densitate de sarcină. STM poate fi astfel utilizat pentru a identifica elementele care compun anumiţi atomi şi pentru a monitoriza dinamica moleculară (figura 10.5).

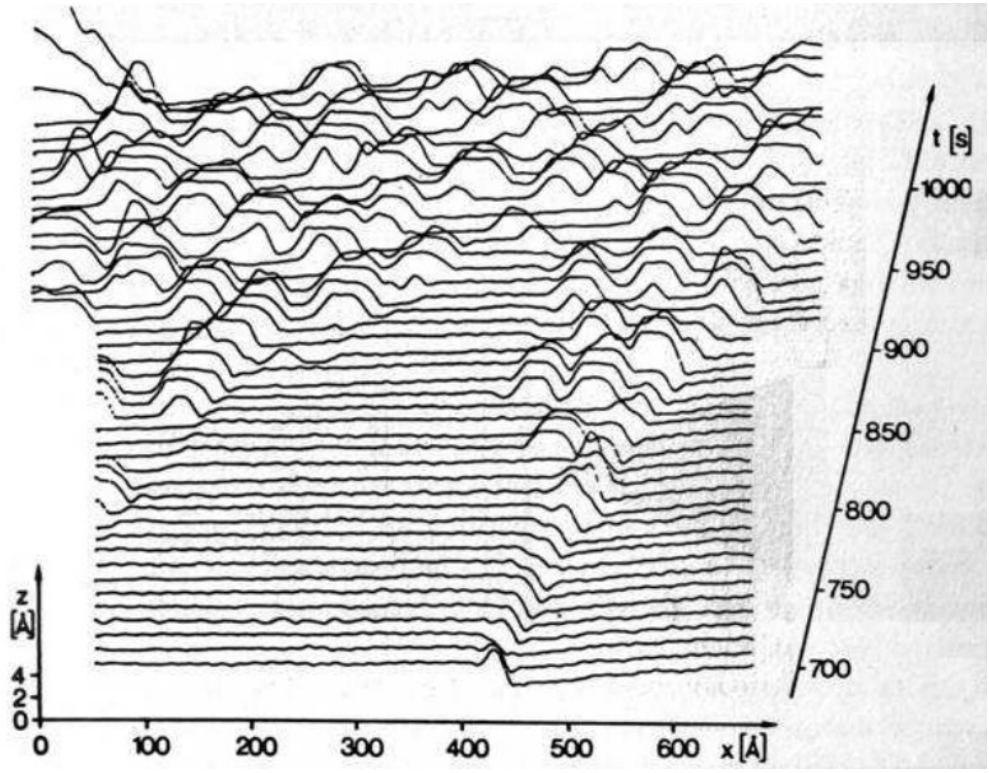


*Fig. 10.5: Scanare STM cu axa **t** care arată evoluţia unui nanosistem peste timp. Cu permisiunea lui Ritter, Behm, Potschke şi Wintterlin (1987), prin amabilitatea lui Eckhart Ritter.*

Adaptabilitatea şi versatilitatea au fost demonstrate de STM-uri operate în aer, apă, soluţie ionică, ulei şi vid înalt (Drake, Sonnenfeld, Schneir, Hansma, Solugh şi Coleman, 1986; Miranda, Garcia, Baro, Garcia, Pena şi Rohrer, 1985). Viteza lor de scanare poate fi împinsă în domeniul imagisticii în timp real (Bryant, Smith şi Quate, 1986). O tehnică pentru prelucrarea vârfurilor STM se bazează pe un proces simplu de frezare cu ioni care poate genera vârfuri ultra-ascuţite cu puncte atomice unice; o tehnică similară poate genera muchii de cuţit ultra-ascuţite şi alte forme de nano-instrumente (Dietrich, 1984). Dieter Pohl (1987) de la IBM-Zurich consideră STM un exemplu al unui grup de tehnologii microscopice "stilou". Vârfurile sunt în curs de dezvoltare ca termocupluri din două metale diferite, sensibile la schimbări extrem de mici de căldură, şi pipete goale capabile să administreze sau să detecteze molecule individuale în soluţie. Pohl se referă la aceste capacităţi STM ca la "gustare şi mirosire" moleculară. O altă funcţie legată de STM poate "atinge şi simţi". În "microscopia cu forţă atomică", o pârghie la scară nanometrică poziţionată de tehnologia piezo STM este deviată de contactul şi/sau mişcarea atomilor, moleculelor sau a ionilor din jurul lor. Deflexiunea pârghiei indusă de forţa Van der Waals este monitorizată de un vârf STM sau prin interferometrie. Binnig, Quate şi Gerber (1986) propun să măsoare forţe la fel de mici ca 10-18 newtoni utilizând microscopia cu forţă atomică. Forma mecanică şi dinamica structurală pot fi investigate fără tunelare prin materialul eşantionului folosind acest mod, care poate fi deosebit de important în studiul biomoleculelor.

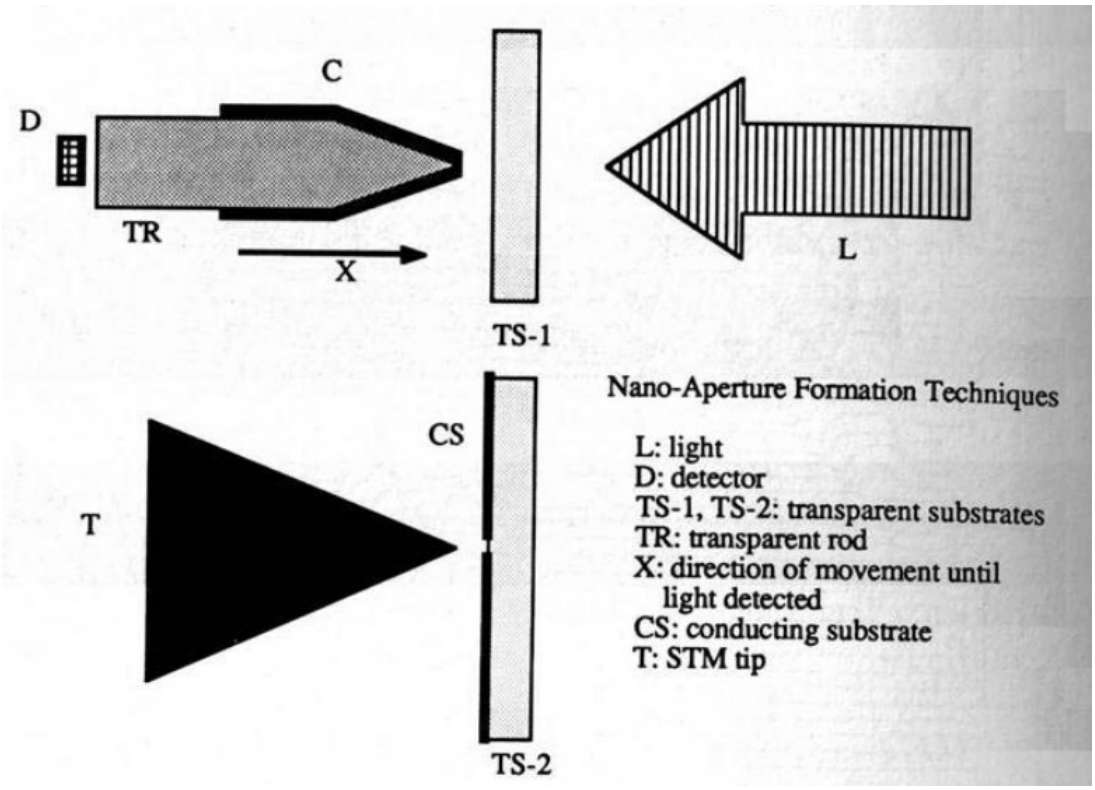


*Fig. 10.6: Formarea de nano-aperturi optice în câmp apropiat. De Conrad Schneiker (Schneiker, 1986).*

O altă ramură a STM poate duce la „nanoviziune”. Rezoluția „microscopiei în câmp apropiat” depinde de diametrul aperturii prin care trece lumina reflectată. Binnig (1985) a descris cum să folosească un STM pentru a face găuri de 20 nm în filme metalice opace care, atunci când sunt utilizate în microscoape cu lumină scanată, devin capabile să rezolve caracteristici mult mai mici decât lungimea de undă a luminii. În general, un con de lumină nu poate fi focalizat într-un punct care este semnificativ mai mic decât lungimea de undă a luminii. Cu toate acestea, lumina trecută printr-o apertură al cărei diametru este de multe ori mai mic decât lungimea de undă, are ca rezultat un fascicul îngust de lumină care poate fi scanat mecanic aproape de o probă examinată. Tehnologia STM este capabilă să creeze nano-aperturi și, de asemenea, mecanismul de scanare necesar pentru imagistica unei zone (Figura 10.6). Pohl, Denk și Lanz (1984) și-au descris „stetoscopul optic” în care „detalii de dimensiuni de 25 nm pot fi recunoscute folosind radiații de 488 nm”. Un avantaj semnificativ al conceptului de stetoscop optic este „că permite investigarea nedistructivă a probelor în mediile lor native” (Lewis, Isaacson, Harootunian și Muray, 1984). Betzig și colegii săi (1986) concluzionează că această tehnologie va fi „capabilă să urmărească evoluția temporală a ansamblurilor macromoleculare în celulele vii... pentru a oferi atât informații cinetice, cât și rezoluție spațială ridicată”. Nano-aperturile de scanare ar putea folosi, de asemenea, raze ultraviolete, raze X, raze gamma, synchotron sau fascicule de particule pentru a „spiona” la scară nanometrică dacă sunt găsite materiale și configurații adecvate (Schneiker, 1986).

Descoperirea revoluționară a lui Schneiker a fost să înțeleagă că vârfurile STM pot fi folosite ca degete de robot ultraminiaturale, ultraprecise, care pot „vedea” și pot fi folosite pentru a manipula direct atomi și molecule individuale, conform ideilor sugerate de Feynman. Procesul de reducere propus de Feynman (mașini care construiesc mașini mai mici și așa mai departe) poate fi redus la un singur pas! Conform conceptului lui Schneiker, STM-urile pot fi conectate direct la nanoscară pentru a implementa, construi și evalua mașinile Feynman și alte nanotehnologii. El menționează că multe biomolecule naturale, cum ar fi enzimele, t-RNA, anticorpii, citoscheletul și multe compuși sintetici, oferă o mare varietate de potențiale vârfuri pentru a realiza viziunea lui Feynman de manipulare moleculară. Nanomanipularea rudimentară a fost deja descrisă. Ringger și

colegii (1985) au descris nanolitografia STM: gravarea suprafeței la scară atomică. Becker, Golovchenko și Swartzentruber (1987) de la Bell Labs au raportat o modificare a unui singur atom al suprafeței unui cristal de germaniu aproape perfect cu vârful de tungsten al unui STM. Ei concluzionează că manipularea structurilor de dimensiuni atomice pe suprafețe va duce la „noi frontiere în memoriile de înaltă densitate, noi dispozitive ale căror proprietăți electrice sunt dominate de efectele de dimensiuni cuantice și modificarea moleculelor unice, autoreplicabile”, — susținând predicțiile anterioare ale lui Schneiker. În primii câțiva ani, STM a imaginat atomi unici, a explorat forțe atomice, a manipulat atomi și a câștigat un premiu Nobel. În cele din urmă, STM-urile și derivatele lor pot permite cercetătorilor să modifice și să comunice cu gene, virusuri, proteine, ansambluri citoscheletice și, eventual, conștiința biomoleculară.

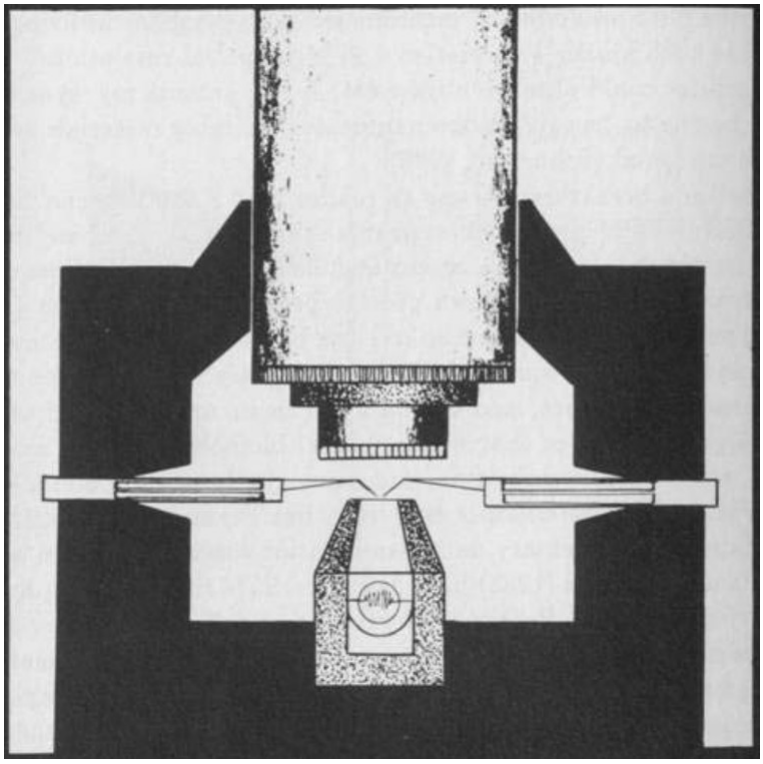

*Fig. 10.7: Stația de lucru în nanotehnologie este imaginată ca o combinație sinergică a mai multor vârfuri STM montate într-un microscop optic. De Paul Jablonka (Schneiker și Hameroff, 1987).*

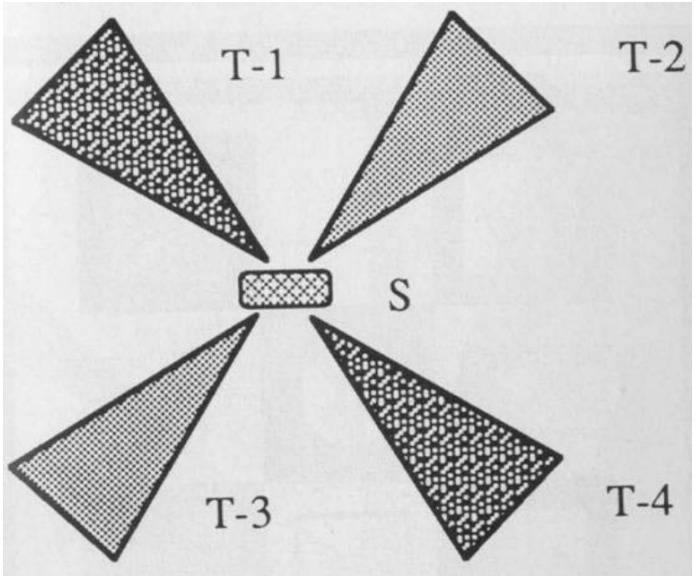


*Fig. 10.8: Geometrie cu vârfuri multiple pentru sondarea STM a sistemelor la scară nanometrică. Conrad Schneiker (Schneiker, 1986).*

Schneiker şi Hameroff (1987) au propus un sistem integrat de STM şi alte tehnologii pentru a profita cel mai bine de capacităţile STM. ”Staţia de lucru nanotehnologică" (Figurile 10.7 şi 10.9) propune combinarea mai multor vârfuri STM, microscopie optică, nanoaperturi şi ghiduri de undă cu fibră optică într-o încercare plină de speranţă de sinergie. De exemplu, STM este extrem de „miop"; poate avea dificultăţi în a-şi găsi ţinta („un ac în carul cu fân"). Dacă este integrat într-un microscop optic puternic, microscopul poate acţiona ca un mod de abordare grosieră pentru a aduce vârful STM în zona dorită. De acolo, STM poate funcţiona ca un mod „cursor" pentru microscop: capabil să extindă vizualizarea şi să manipuleze atomi şi molecule. Într-o configuraţie a staţiei de lucru nanotehnologice, patru STM-uri sunt plasate simetric în jurul unui STM central şi acestea formează un unghi de 45 de grade faţă de planul eşantionului; acestea pot fi ulterior augmentate cu interferometre optice cu fibră pentru determinarea precisă a coordonatelor spaţiale şi controlul mişcării (Figura 10.8). STM-ul central poate fi utilizat pentru scanare de mare viteză, în timp ce STM-urile periferice sunt utilizate ca scanere STM oblice, scanere nanoapertură, electrozi, „degete" mecanice sau antene de frecvenţă optică. În plus, alte patru mini-braţe ajustate la microni pot transporta fibre optice orizontale: două pentru iluminare generală şi două pentru interfeţe experimentale.

Obiectivele microscopului optic reflectorizant pot fi poziţionate astfel încât axa optică să fie perpendiculară pe planul perechii opuse de STM-uri, iar focalizarea este acolo unde vârfurile lor s-ar întâlni când sunt complet extinse. Optica acestor microscoape le-ar permite să privească în jurul sistemului de iluminare cu fibră optică montat pe axa frontală a fiecărui microscop. Sistemul optic ar fi achromatic şi capabil să funcţioneze în infraroşu îndepărtat până la ultraviolet, ceea ce ar trebui să ducă la o rezoluţie optică crescută. Acoperirea fluorescentă pentru vârfurile STM (excluzând ultimii câţiva nm) poate ajuta la vizualizarea locaţiei lor. Sistemul final de imagistică ar trebui să constea din detectoare cu stare solidă a căror ieşire poate fi afişată pe monitoare color de înaltă rezoluţie: moduri STM, microscop optic, „nanoviziune" cu nanoapertură etc. (Figura 10.9 şi 10.10).

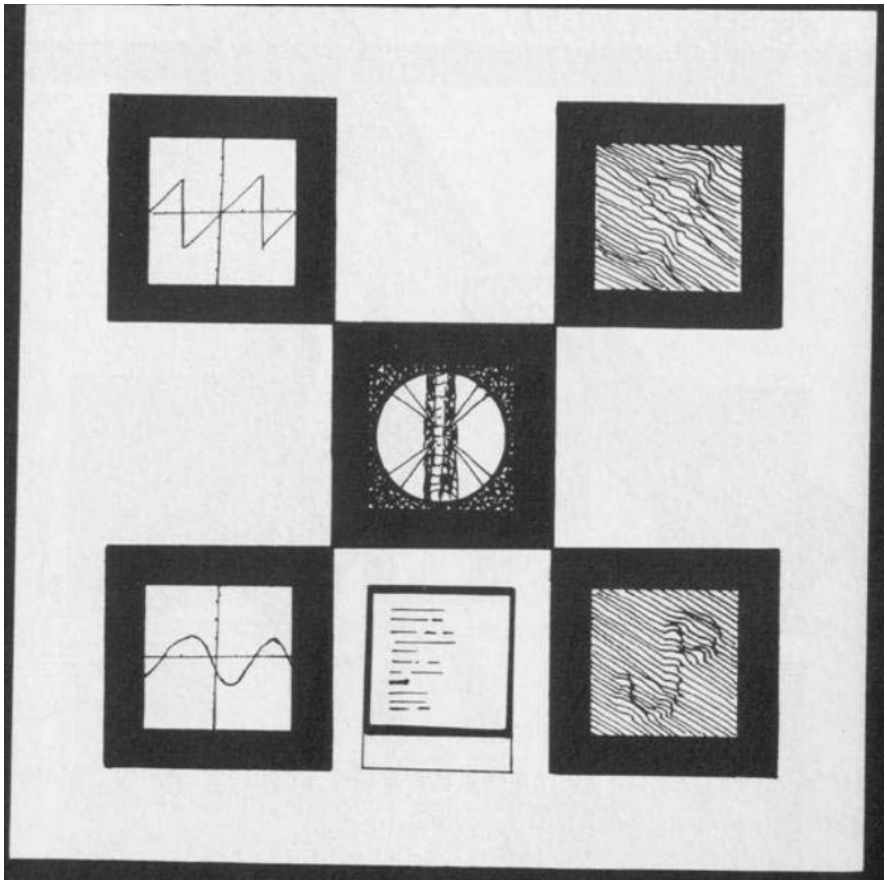

*Fig. 10.9: Afişaje grafice, monitoare şi modul de control pentru staţia de lucru nanotehnologică. De Paul Jablonka (Schneiker şi Hameroff, 1987).*

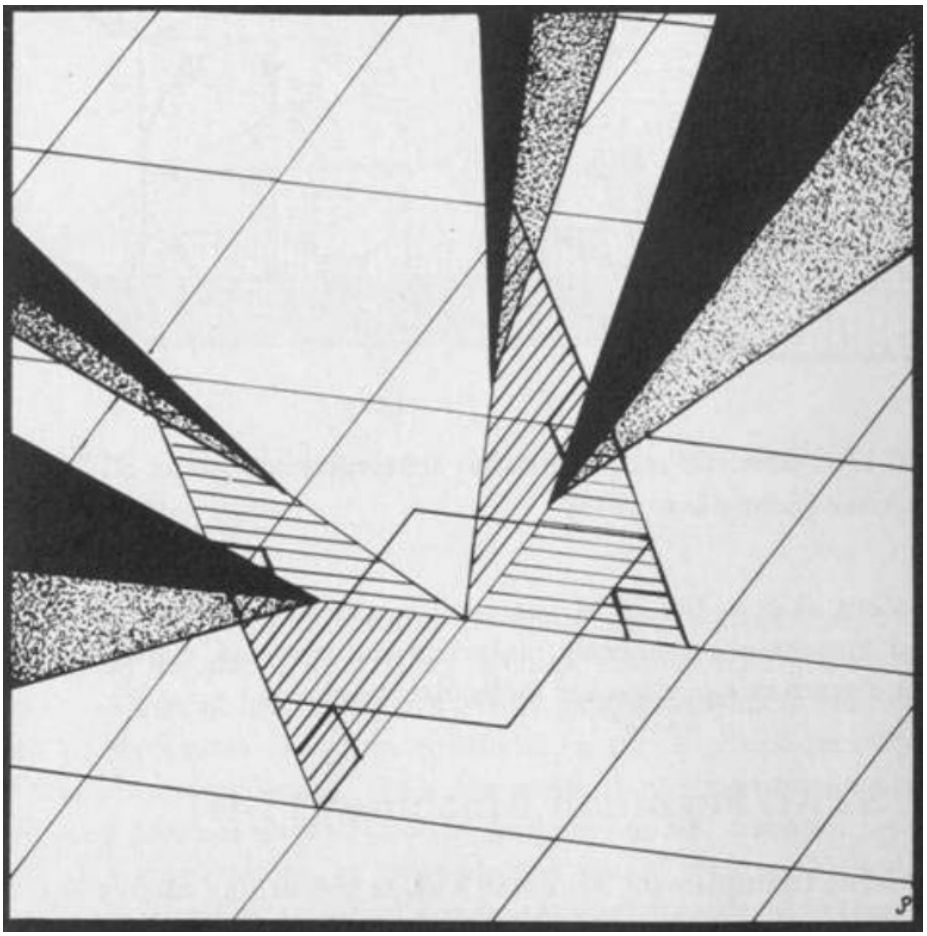

*Fig. 10.10: Vedere a patru vârfuri STM care se apropie de staţia de probă în staţia de lucru de nanotehnologie. De Paul Jablonka (Schneiker şi Hameroff, 1987).*

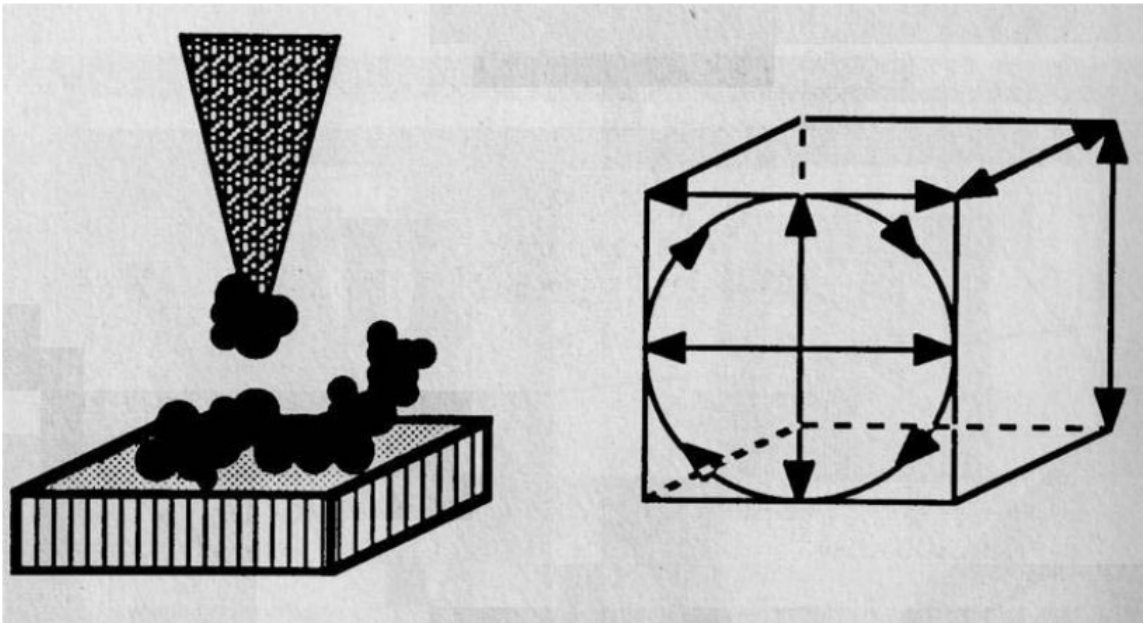

*Fig. 10.11: Mişcarea şi construcţia moleculară cu un STM. De Conrad Schneiker (Schneiker, 1986).*

Un sistem asemănător staţiei de lucru nanotehnologice STM poate observa şi manipula dinamic materiale şi sisteme la scară nanometrică, capacităţi în concordanţă cu noţiunile lui Feynman privind maşinile moleculare.

## 10.3. Mașini STM/Feynman (FM)

STM-urile utilizate pentru punerea în aplicare a ideilor lui Feynman privind fabricarea şi prelucrarea la nivel atomic şi molecular (maşini Feynman: "FM") au fost denumite de Schneiker "STM/FM".

Feynman remarcase posibilitatea de a realiza sinteze chimice pe cale mecanică. Într-un efort de a avansa în această direcţie, Schneiker (1986) a propus următoarele experimente STM (figura 10.11). 1) Utilizarea unui vârf STM pentru a mișca împreună o pereche de *adatomi* (sau fragmente moleculare) pe un substrat (sau vârf STM) astfel încât să inducă o legătură chimică. 2) Utilizarea unui vârf STM pentru a rupe o legătură chimică a unei molecule adsorbite pe un substrat. 3) Utilizarea unei enzime sau un catalizator sintetic adsorbit pe un vârf STM pentru a repeta experimentele (1) și (2).

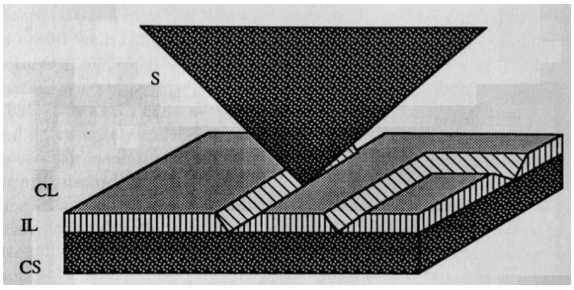


*Fig. 10.12: Nanomilling/nanolitografie. De Conrad Schneiker (Schneiker, 1986).*

Poate că primul pas în astfel de propuneri ambițioase a fost deja realizat. Grupul Bell Labs (Becker, Golovchenko și Swartzentruber, 1987) a utilizat un vârf STM pentru a plasa un singur atom pe o suprafaţă de germaniu. Alte modificări și aplicații STM/FM elucidate de Schneiker (1986) includ 1) modificări ale formei vârfului (bisturiu, daltă, cilindric și alte configurații) pentru operații de scanare, trasare, gravură, frezare și lustruire sau pentru interfețe electrice, sinteză sau prelucrare electrochimică, 2) structuri ataşate vârfului (enzime, catalizatori sintetici, eteri corona selectivi din punct de vedere al formei, molecule transductoare etc.). ) pentru recunoaşterea moleculară cu operații de preluare, plasare, îmbinare și scindare selective în funcție de specie (și poate asistate electrostatic sau electromagnetic) sau pentru detectarea nano-mediului, 3) configuraţii multiple ale vârfurilor (configurații paralele sau radiale) pentru a fi utilizate ca pensete ultraminiaturale, jig-uri și arce sau electrozi de interfață, sau pentru a genera câmpuri electrice cu rotație rapidă și 4) modificarea materialelor vârfurilor (izolante, semiconductoare, feroelectrice sau feromagnetice) pentru modulație electrostatică, electromagnetică, magnetică, acustică kHz-GHz (longitudinală, transversală sau torsională) și optică în configurații mono sau multipolare (figurile 10. 12 și 10.13).

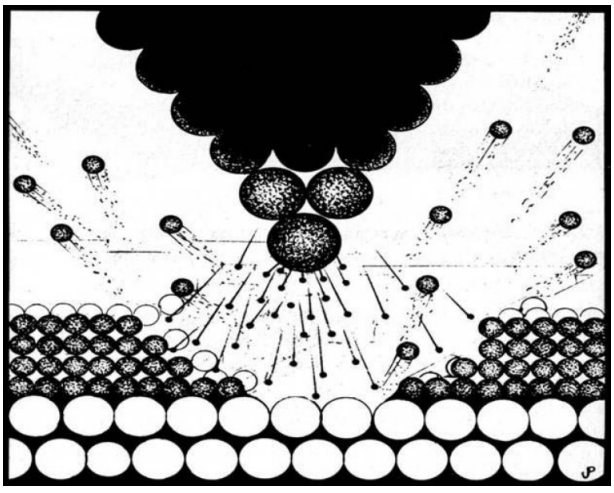

*Fig. 10.13: Vedere la scară nanometrică a nanomăcinării/nanolitografiei STM. De Paul Jablonka (Schneiker și Hameroff, 1987).*

Pe lângă modificările de mai sus, STM/FM-urile sau vârfurile lor ar putea fi augmentate cu o mare varietate de senzori şi traductoare; microscopul cu forţă atomică al lui Binnig, Quate şi Gerber (1986) este un exemplu excelent. Augmentarea STM/FM-urilor cu interferometre cu fibră optică (sau tehnici comparabile) ar putea oferi o calibrare în timp real extrem de precisă a poziţionării absolute şi relative a vârfului STM/FM, depăşind astfel problemele de zgomot electric, fluaj, îmbătrânire şi histerezis inerente în sistemele actuale de poziţionare piezo a STM. Tehnica dată în Dietrich, Lanz şi Moore (1984) pentru realizarea vârfurilor cu profiluri conice uniforme vârf-bază ar fi utilă pentru STM/FM-uri care folosesc vârfuri multiple apropiate. Schneiker presupune că seturile de STM/FM-uri configurate şi instrumentate corespunzător pot funcţiona ca maşini-unelte cu şuruburi de plumb şi rulmenţi efectiv perfecte. STM/FM-urile pot fi, de asemenea, utilizate ca detectoare de proximitate cu rezoluţie subatomică şi maşini de măsurat coordonate pe suprafeţe conductive (AFM-urile ar fi utilizate pentru izolatori) pentru a monitoriza operaţiuni de nano-prelucrare aproape perfecte şi super-precise (limitată de granulaţia atomilor şi alte consideraţii de ştiinţa materialelor). Multe structuri şi mecanisme mecanice macroscopice utile pot fi astfel duplicate la nivel submicron, iar multe dintre aceste mecanisme pot să nu necesite lubrifiere datorită scalării forţei/aria şi disipării foarte rapide a căldurii (Feynman, 1961). Pentru mecanisme şi mai mici, ar fi necesară o trecere la abordarea chimiei mecanice a lui Feynman pentru a construi dispozitive moleculare într-o serie de operaţiuni de asamblare şi tăiere. Multe molecule sintetice existente în prezent ar putea fi utilizate ca blocuri de construcţie; sistemul de angrenaje şi rulmenţi moleculari al lui Yamamoto (1985) oferă un exemplu interesant şi se crede că este capabil să se rotească de aproximativ un miliard de ori pe secundă.

STM/FM-urile pot executa multe mişcări mecanice complexe pentru a conduce astfel de nanomecanisme (Schneiker, 1986). De exemplu, o serie esenţial infinită de mişcări tridimensionale ale vârfului (linii drepte unice, cercuri, spirale, elice etc.) pot fi realizate la viteze limitate în prezent în principal de rezonanţele mecanice din sistemul de antrenare al STM-urilor actuale - o altă motivaţie pentru miniaturizarea lor considerabil. Astfel, ar fi posibil, de exemplu, să rotiţi o manivelă mecanică la scară moleculară (să spunem cu un diametru de 2 nm) la mii de rotaţii pe minut. Similar cu flageli şi cilii organismelor unicelulare, acestea ar putea fi utilizate pentru propulsia roboţilor la scară nanometrică şi alte utilizări. Capacităţile STM/FM-urilor nu au existat până acum; prin urmare, aplicaţiile pot abundă în viitorul apropiat, pe măsură ce oamenii de ştiinţă din multe discipline devin conştienţi de această tehnologie versatilă şi ieftină.

## 10.4. Concurs Micro/Nano STM

Propunerea iniţială a lui Feynman (1961) privind maşinile la scară moleculară şi atomică includea premii şi concursuri pentru a „stârni interesul copiilor pentru acest domeniu”. El a oferit 1000 de dolari primei persoane care: a) reduce informaţia de pe pagina unei cărţi la o suprafaţă mai mică cu 1/25.000 la scară liniară pentru a fi citită de un microscop electronic; b) construieşte un motor electric care are doar 1/64 inch cub.

Cel din urmă premiu a fost acordat de profesorul Feynman la 28 noiembrie 1960 lui William McLellan, care a construit un motor electric de dimensiunea unui fir de praf (Gilbert, 1961). Primul premiu a fost acordat în 1985 lui Tom Newman, absolvent al Universităţii Stanford, care a utilizat litografia cu fascicul de electroni pentru a reduce o pagină din „*Povestea a două oraşe*” la 5,9 x 5,9 micrometri şi a mărit-o la loc folosind un microscop electronic.

Motivat de dorinţa de a accelera dezvoltarea tehnologiei derivate din STM ca o punte către Maşinile Feynman mai puternice, Schneiker (1985, 1986) a anunţat o serie de provocări şi premii de construcţie (Hansma şi Tersoff, 1987). Provocările sunt de a construi, opera şi demonstra public STMs (inclusiv partea activă/mobila a sistemelor mecanice de poziţionare şi scanare) care pot fi controlate din exterior şi care (fără a lua în calcul firele de intrare, fibrele optice etc.) au următoarele dimensiuni sau mai mici: $(1\ mm)^3$, $(100\ (am)^3$, $(10|am)^3$, $(1\ (im)^3$, $(100\ nm)^5$ şi $(10\ nm)^3$. Capacitatea de imagistică ar trebui să fie comparabilă cu cea indicată de imaginea de la pagina 482, vol. 56 al jurnalului de fizică Helvetica Physica Acta, 1983. Cele două teste de imagistică vor fi: a) imagistica unei suprafeţe de grafit pirolitic foarte ordonată de (10 nm) pătraţi şi b) imagistica întregii suprafeţe

conice a unui alt vârf STM de tungsten (care nu se rotește) cu vârf atomic (formând un con de 60° sau mai puțin), extinzându-se cu 2 nm de la acel vârf. Scanările succesive trebuie efectuate pentru a demonstra că dispozitivul dvs. nu modifică aceste elemente de testare. O pereche suplimentară de provocări sunt 1: de a folosi un STM/FM pentru a a) sintetiza mecanic 10 molecule din moleculele sferice C6o sau Cigo propuse, cunoscute sub numele de „Buckminster Fullerene” (Schneiker, 1986) și de a b) demonstra în mod concludent că sinteza a avut succes, și 2: de a folosi un STM/FM pentru a: a) sintetiza mecanic un strat de grafit de 10 nm x 10 nm și de a b) demonstra în mod concludent că sinteza a avut succes. Premiile actuale oferite, unul per categorie, sunt de 1000 USD, cu un maxim de un premiu plătit pe an. Potențialii câștigători trebuie să contacteze autorul. Sunt solicitați sponsori și premii suplimentare. Și, după cum a sfătuit inițial Feynman:

*... distracție plăcută! Să avem o competiție între laboratoare*.

## 10.5. STM/FM-uri și calcul molecular

Capacitatea de a utiliza STM/FM cu mai multe vârfuri pentru chimia mecanică și ca interfețe electrice ar putea rezolva două probleme formidabile în dezvoltarea dispozitivelor de calcul molecular prevăzute de Carter (1983): 1) sinteza dispozitivelor prototip și 2) realizarea de conexiuni electrice individuale, fiabile, la acestea pentru testare.

Șiruri de electrozi la scară nanometrică sau vârfuri STM care cuprind ansambluri la scară submicronică pot fi extrem de utile dacă poziția lor poate fi reglată precis și rapid. Schneiker (1987) a sugerat că utilizarea optimă a materialelor piezo-ceramice poate fi folosită pentru scanarea paralelă a șirurilor la scară nanometrică. "Biomorph-bender"-ul piezo-ceramic descris de Dieter Pohl și colegii (1986) 'poate fi folosit pentru a manipula astfel de șiruri pentru citirea și scrierea rapidă și paralelă a cipurilor cu șiruri la scară nanometrică pentru stocarea în masă și procesarea informațiilor (Figurile 10.14 și 10.15, Schneiker, 1987).

STM/FM-urile ar putea fi utilizate pentru operațiuni mai convenționale de tăiere și reparare de circuite sau componente ultraprecise. Sistemele de poziționare extrem de precise ale STM/FM ar putea fi exploatate pentru sisteme de *wirebonding* la scară minimă. Alte aplicații derivate din STM ar putea include inspecția și interfațarea electrică și mecanică cu dispozitivele cu fântâni cuantice superlattice sau dispozitivele "quantum dot" la scara nanometrilor cubici. În 1959, Feynman a remarcat că, folosind strategia sa, ar trebui să fie în cele din urmă posibil să se facă ceea ce sunt acum numite *superlattice* și că acestea ar avea probabil unele proprietăți foarte interesante (Feynman, 1961). Chiar dacă STM/FM-urile ar putea să nu fie folosite în cele din urmă pentru a produce în masă astfel de dispozitive, ele ar putea fi folosite pentru a construi prototipuri, a ajuta la caracterizarea dispozitivelor de testare și a fi folosite pentru a le optimiza. Sputtering-ul indus de vârful STM (Binnig, Gerber, Rohrer și Weibel, 1985) ar putea fi utilizat pentru gravarea sau frezarea conductorilor ultrafini pentru astfel de dispozitive. Disponibilitatea chiar și a unui număr mic de astfel de dispozitive de înaltă performanță ar avea o mare valoare de instrumentație ca interfețe și traductoare (Figurile 10.16 până la 10.19).

Componentele de calcul formate fiecare din câțiva atomi ar putea utiliza niveluri cuantificate de energie sau efecte de spin (Feynman, 1960); dacă astfel de dispozitive ar putea fi proiectate și asamblate, ele ar putea fi de mii de ori mai rapide decât dispozitivele convenționale utilizate în calculatoarele actuale. Alte aspecte ale calculatoarelor cuantice sunt discutate în Maddox (1985), iar alte referințe interesante pot fi găsite în Schneiker (1986). Interfațarea eficientă a acestor dispozitive și a altor dispozitive de acest tip cu lumea exterioară într-un mod care să permită utilizarea eficientă a lățimii de bandă potențiale de calcul prezintă unele probleme interesante în materie de ceasuri, intrare/ieșire și în alte domenii. Schneiker susține că tehnologia electronică optică sugerată de Javan (1985, 1986) ar putea fi utilă și în aceste nanoaplicații și în altele. Folosind micro și nano-antene cuplate la radiația laser, câmpuri electrice intense, localizate, de înaltă frecvență, modulate de intensitatea, faza și polarizarea fasciculului laser, ar putea controla și alimenta rețele de dispozitive la scară nanometrică construite prin STM/FM. Aceeași idee ar putea fi utilizată pentru a controla, alimenta și comunica cu roiuri de nanoroboți mobili.

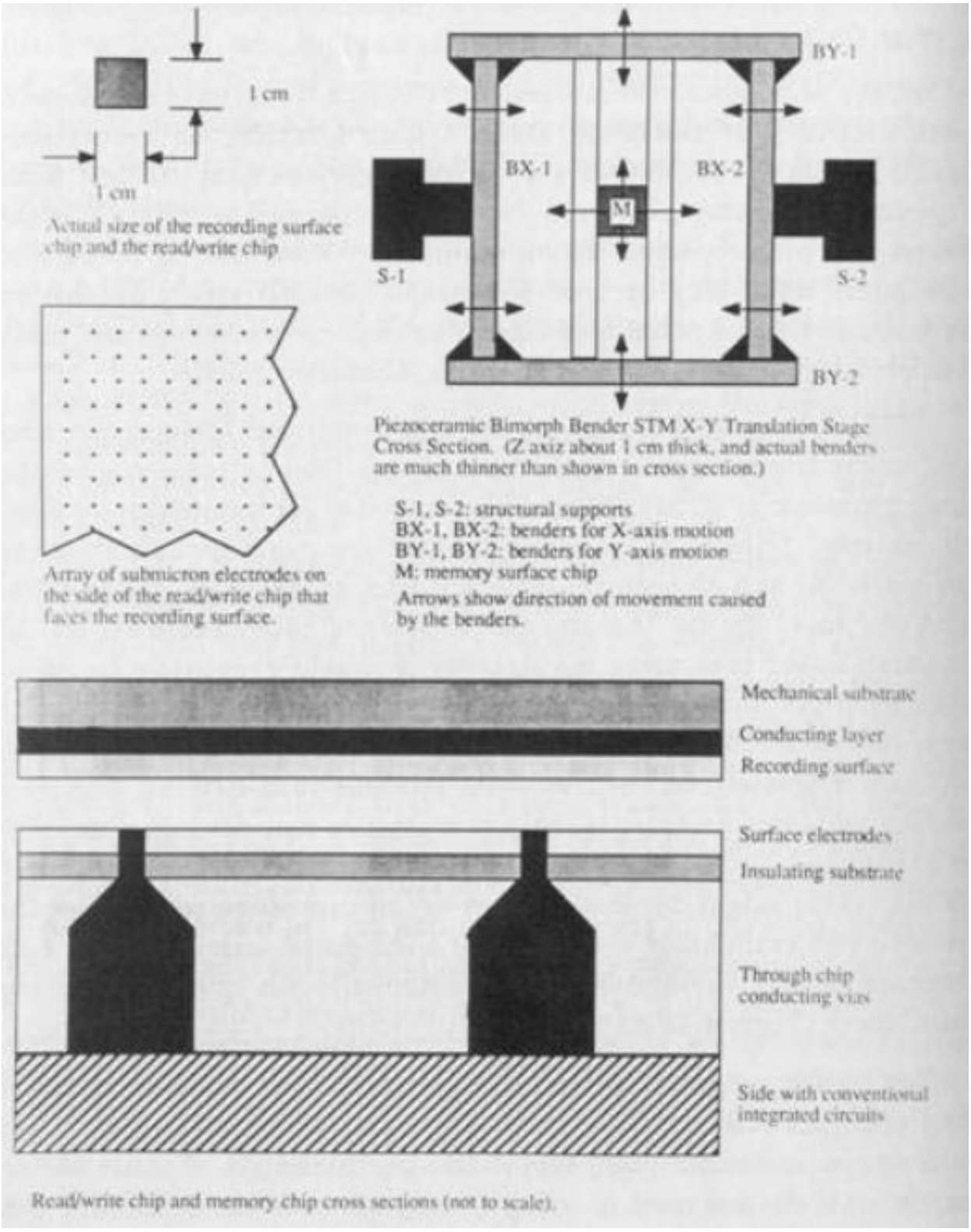


*Fig. 10.14: Calculator de stocare de masă pentru citirea și scrierea rapidă în paralel a cipurilor acoperite cu „nano-filme”. În cele din urmă, electrozii ar putea fi înlocuiți cu micro-STM-uri (figura 10.15) pentru accesarea dispozitivelor moleculare individuale. Un sistem simplu ar putea fi configurat și pentru nanolitografie foarte paralelă. De Conrad Schneiker (Schneiker, 1986).*

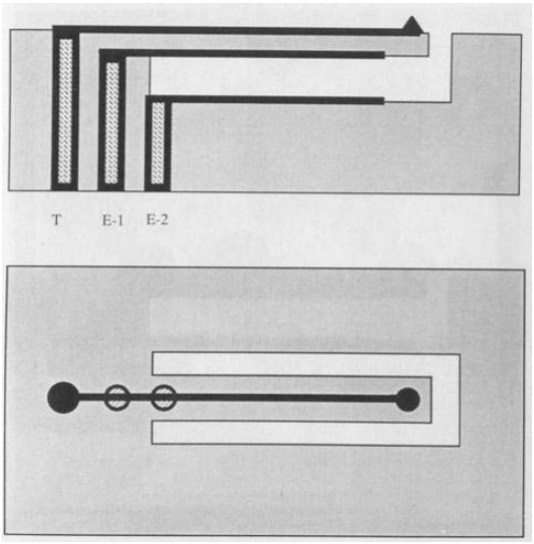


*Fig. 10.15: Un micro-STM format pe un substrat de siliciu; mii de astfel de structuri pot fi plasate pe un singur cip de siliciu. De Conrad Schneiker (Schneiker, 1986).*

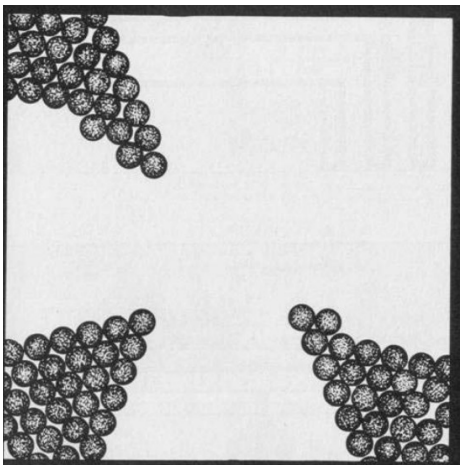

*Fig. 10.16: Trei vârfuri STM în configurație pentru experimentul de modulare prin tunel. De Paul Jablonka (Schneiker și Hameroff 1987).*

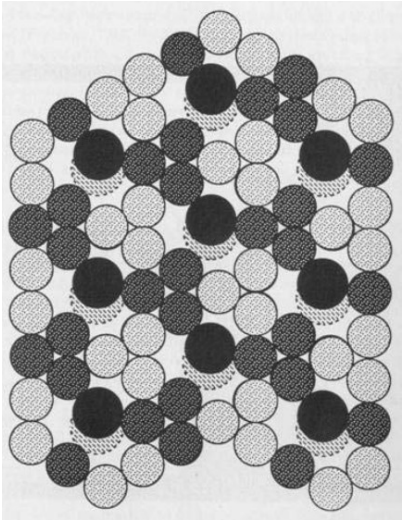

*Fig. 10.17: Comutator electrochimic cu efect tunel/dispozitiv de memorie atomică. De Conrad Schneiker (Schneiker, 1986).*

În timpul unor discuții recente despre ideile sale privind calculul cuantic, Feynman a speculat pe scurt o posibilitate simplă de fabricare a componentelor nanocomputerului: utilizarea vârfurilor STM pentru a face găuri minuscule în foi de metal foarte subțiri, formând astfel grile pentru „tuburi de nanovacuum” cu efect de tunel, poate de dimensiuni cuprinse între 3 și 10 nm sau mai mici (Feynman, 1985, 1986). Shoulders (1965) a propus dispozitive similare, dar mult mai mari (până la scara de 100 nm), cu viteze de comutare calculate în domeniul picosecundelor. Deşi a luat în considerare dispozitive și mai mici și mai rapide, limitările tehnologiei de *micromachinare* cu fascicule de electroni de la acea vreme au împiedicat reducerea suplimentară a dimensiunilor (Shoulders, 1986). STM/FM ar putea rezolva această problemă şi multe altele. Într-adevăr, Laboratorul de cercetare navală studiază în prezent tuburi de vid submicronice subpicosecunde (a mia nanosecundă) (Robinson, 1986).

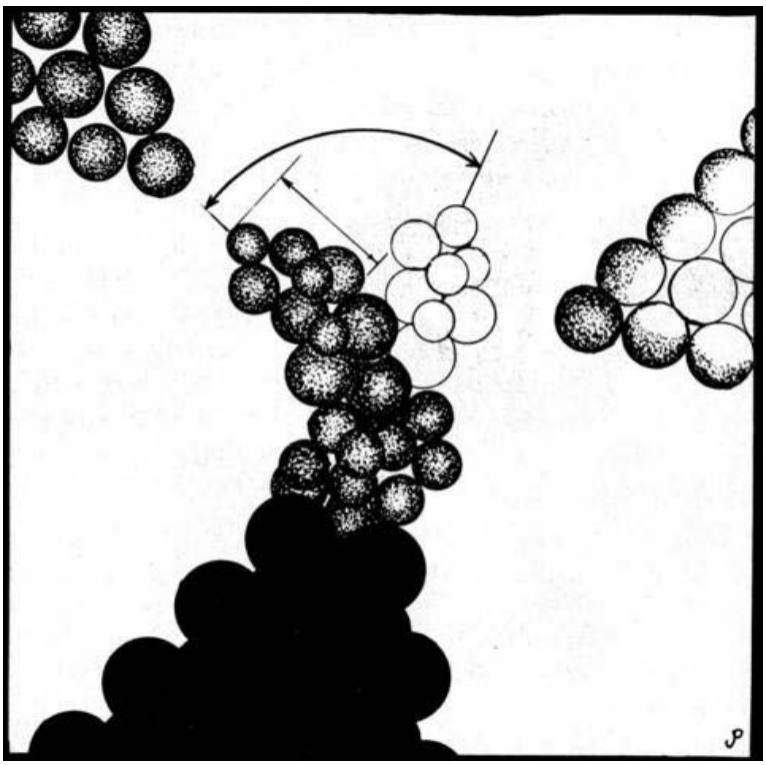

*Fig. 10.18: Schimbare de conformație moleculară indusă/detectată prin STM. De Paul Jablonka (Schneiker și Hameroff, 1987).*

## 10.6. STM/FM și aplicații biomedicale

Interacțiunile STM nedistructive cu materialul biologic au un potențial imens, presupunând că sunt depășite anumite obstacole tehnice. Problemele potențiale includ următoarele:

1. Biomoleculele, celulele și țesuturile nu sunt conductoare. Tunelarea electronilor prin aceste materiale, dacă are loc, poate fi dăunătoare. Cu toate acestea, mai multe grupuri, inclusiv IBM Zurich, au reuşit să creeze imagini ale biomaterialelor în aer, cum ar fi ADN-ul acoperit cu proteine și structurile virale. Se consideră că tunelarea are loc de la vârf la suprafața biomoleculară, urmată de „transportul de electroni cu rezistență redusă la substratul conductor” (Travaglini, Rohrer, Amrein și Gross, 1986). Microscopia optică simultană, așa cum se poate întâmpla cu stația de lucru nanotehnologică, poate ajuta în această situație, deoarece fotonii pot reduce barierele de tunelare. Alegerea adecvată a lungimilor de undă ale microscopiei optice poate facilita astfel imagistica STM, permițând curenți de tunelare care nu dăunează.

O abordare alternativă este utilizarea unui mod de funcționare a microscopului cu forță atomică (AFM) pentru materiale biologice. În acest caz, o pârghie adaptată și montată pe un STM

se deplasează de-a lungul suprafeței sau este menținută stabilă pentru a observa dinamica mecanică a materialului (de exemplu, schimbarea conformațională a proteinei). Mișcarea pârghiei este monitorizată de STM, astfel încât cartografierea și dinamica pot fi observate fără tunelare directă prin biomaterial.

Vârfurile STM cu termocuplu și pipetă la scară nanometrică descrise de Pohl de la IBM (1987) pot fi, de asemenea, utile pentru materialele biologice.

2. Materialele biologice ar trebui studiate într-un mediu stabil cât mai asemănător cu mediul apos din citoplasmă. Temperatura, pH-ul, concentrațiile ionice, disponibilitatea grupărilor fosfat de înaltă energie și numeroși alți parametri trebuie să fie atent reglementate. Cercetătorii de la University of California-Santa Barbara au demonstrat că imagistica STM poate avea loc la interfețele lichid ionic-solid. Prin izolarea sondelor STM până foarte aproape de vârfurile lor, se pare că se evită scurgerea semnificativă de curent în mediul apos ionic (Sonnenfeld și Hansma, 1986). Astfel, STM ar trebui să fie aplicabil la caracterizarea biomoleculelor vii în condiții fiziologice stabile.

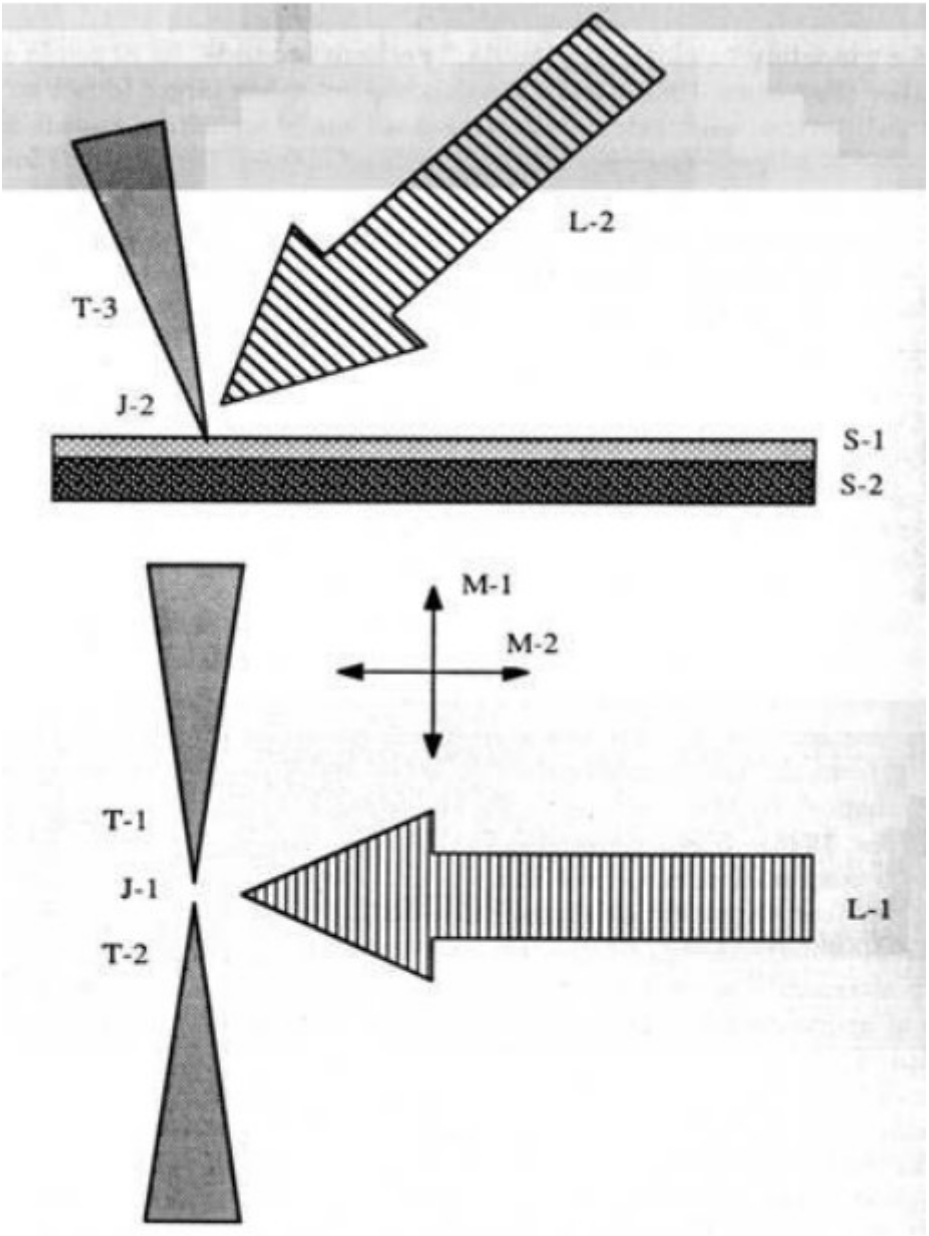


*Fig. 10.19: Comutatoare cu efect tunel STM modulate la frecvențe optice cu lasere. De Conrad Schneiker (Schneiker, 1986).*

3. O a treia problemă a fost „miopia” STM-ului. Grupul lui Hansma din Santa Barbara și echipa IBM-Zurich au avut dificultăți în localizarea moleculelor de ADN pe substratul de fundal cu STM. Această problemă a „acului în carul cu fân” este potențial rezolvată printr-o configurație de stație de lucru de nanotehnologie în care abordarea grosieră a STM este simplificată prin observare vizuală. În plus, tehnicile de imunofluorescență pot fi utilizate pentru a identifica ținte biomoleculare specifice și sondele STM în sine. Câmpurile electroforetice aplicate pe scena de eșantionare pot atrage și imobiliza biomoleculele încărcate, făcându-le mai ușor de localizat și de studiat (Lindsay, 1987).

Potențialele aplicații ale STM în biologie și medicină includ imagistica repetitivă și cartografierea structurală a materialului viu, studiul nedistructiv al modificărilor structurale dinamice, cum ar fi receptorii de proteine (prin modificări ale modului AFM), detectarea phononilor sau solitonilor posibil propagatori (folosind configurațiile multiple STM, un vârf poate perturba și altul detecta perturbarea într-o a doua poziție pe o macromoleculă sau polimer), analiza spectroscopică (adică citirea perechilor de baze ADN, comunicarea rețelei citoscheletice) și imagistica în timp real (prin scanare de mare viteză) a structurilor vii pot extinde orizonturile bioștiințelor experimentale. Mai mult, o capacitate de manipulare la scară nanometrică a biomaterialelor și organitelor oferă o serie de posibilități imaginative. De exemplu, câteva zeci de STM/FMs cu mai multe vârfuri ar putea fi dezvoltate pentru a extrage, manipula, analiza și modifica direct ADN-ul sau alte componente celulare, asistând astfel în mare măsură unele subdomenii ale ingineriei genetice și ale cercetării medicale. Sinteza sau modularea moleculelor biologice importante care sunt „topologic complexe” (de exemplu, receptori, enzime, anticorpi, citoschelet) care pot fi dificile și relativ scumpe folosind chimia sintetică actuală, ar putea fi în cele din urmă fezabile cu STM/FMs. Feynman (1961) a comentat că se pot aștepta progrese mari în biologie atunci când „puteți pur și simplu să priviți și să lucrați cu molecule individuale”. STM/FMs ar putea ajuta la materializarea unor aplicații biomedicale și mai grandioase atunci când sunt utilizate în combinație cu ingineria genetică: pentru a crea, modifica sau programa microorganisme pentru utilizări terapeutice.

Ettinger (1972):

> *Dacă putem proiecta modele de comportament suficient de complexe în organisme microscopice, există posibilități evidente și nelimitate, unele dintre cele mai importante în domeniul medical. Poate că putem crea organisme gardiene și necrofage în sânge, superioare leucocitelor și altor agenți din moștenirea noastră umană, care vor vâna și curăța eficient o mare varietate de invadatori ostili sau dăunători*.

Asimov (1981) sugerează că noi:

> *Să luăm în considerare bacteriile. Acestea sunt ființe vii minuscule alcătuite din celule unice mult mai mici decât celulele plantelor și animalelor .... [Noi] putem, prin proiectarea adecvată a acestor sclavi ai noștri, să îi folosim pentru a remodela lumea însăși și pentru a o construi aproape de dorința inimii noastre ....*

White (1969) a propus o noțiune similară pentru mașinile programabile de reparare a celulelor:

> *informația genetică adecvată poate fi introdusă prin intermediul unor particule virale construite artificial într-o celulă congenital defectă pentru remediere (și) ... reparare. Programul de reparare trebuie să utilizeze (sinteza proteinelor și căile metabolice proprii celulelor pentru a diagnostica și a repara orice daună*.

Abordările nanotehnologiei biomedicale care se bazează exclusiv pe ingineria genetică/proteică și pe autoasamblare (Asimov, 1981; Aridane, 1983; Drexler, 1981, 1986) sunt

sever constrânse de lipsa controlului direct şi a observării: atributele potenţiale ale STM/FM. Hibrizi şi componente de organisme, structuri citoscheletale, viruşi şi structuri sintetice pot evolua, facilitate de capacităţile STM/FM, pentru a fabrica, examina şi modifica nanostructuri. Ettinger (1972) a anticipat că "roboţii nanominiaturizaţi ne vor servi". Feynman (1961) a relatat că un prieten, Albert R. Hibbs, a sugerat:

> *o posibilitate foarte interesantă pentru maşinile relativ mici. El spune că, deşi este o idee foarte nebunească, ar fi interesant în chirurgie dacă ai putea înghiţi chirurgul. Ai pune chirurgul mecanic în interiorul vasului de sânge ... . Alte maşini mici ar putea fi încorporate permanent în interiorul corpului ....*

Feinberg (1985) consideră că:

> *... construirea de nanosenzori care ar putea fi implantaţi în corpul uman. Acestea ar putea ... [monitoriza] diverse funcţii fiziologice de la moleculele subcelulare până la ţesuturi şi organe ... esenţiale în determinarea unora dintre mecanismele implicate în creştere şi îmbătrânire*.

Feinberg (1985) a propus, de asemenea, utilizarea energiei laser pentru alimentarea şi comunicarea cu senzorii implantaţi şi pentru dirijarea activităţilor nanoroboţilor.

> *... folosind radiaţii coerente, cu lungimi de undă scurte, vom putea şi noi să potrivim realizările celulelor care ne compun şi să facem inginerie moleculară.*
>
> *Aceste structuri moleculare vor fi mult mai complexe decât tot ceea ce tehnologia umană a realizat până acum .... Ar putea fi posibilă extinderea unora dintre metodele care utilizează ... radiaţia coerentă cu lungime de undă scurtă ... la nanofabricare, precum şi la observarea a ceea ce facem în lumea nano, deoarece microholografia poate fi utilizată pentru demagnificarea modelelor, precum şi pentru mărirea acestora*.

Există raţiuni şi aplicabilitate pentru nanodispozitive mobile, ale căror misiuni ar putea fi să urmărească şi să distrugă virusuri letale sau malignităţi, să excaveze vasele de sânge înfundate, să corecteze exprimarea şi diferenţierea genetică, să repare sau să elimine procesele de îmbătrânire, inclusiv încurcăturile senile ale proteinelor citoscheletice şi, poate, să sporească capacităţile naturale. Practic, fiecare boală ar putea fi susceptibilă la vizite la domiciliu intracelulare de către astfel de structuri, dacă ar exista vreodată. Astfel de nanodispozitive ar putea fi modelate după, sau ar putea utiliza direct, elemente citoscheletice (centrioli, microtubuli etc.), virusuri (bacteriofagi) programate prin gene special concepute şi/sau controlate prin telemetrie. Materiale sintetice, inclusiv nano STM/FMs compuse din materiale piezo, pot fi încorporate.

Ellis (1962) a discutat posibilitatea microteleoperatorilor (şi a sugerat că enzimele proteice ar putea funcţiona în acest mod). Nanoantenele au fost propuse de Marks (1985), care a descris două straturi ortogonale (aproximativ 200 de nanometri lungime) de matrice de antene dipolice metalice care pot converti fotonii în curent continuu cu o eficienţă de 75 la sută. Javan (1985, 1986) a studiat mustăţi metalice care pot forma joncţiuni tunel şi pot fi potrivite ca nanoantene. Noţiunea lui Feinberg (1985) de comunicare prin radiaţii coerente de lungime de undă scurtă şi conceptul de nanoapertură al lui Pohl ar putea fi utilizate pentru feedback-ul şi observarea la distanţă a activităţilor la scară nanometrică (Schneiker, 1986). STM/FMs combinate cu inginerie genetică şi tehnici imunologice ar putea fi utilizate pentru a crea, observa şi evalua astfel de nanodispozitive mobile, ale căror capacităţi ar fi optimizate ca automate replicative.

## 70.7. Replicarea automatelor

Ideile de maşini automate şi roboţi au existat timp de secole, însă până la lucrările lui John von Neumann de la mijlocul secolului al XX-lea nu a existat o dovadă matematică a existenţei

posibile a automatelor autoreplicante într-un sens fizic real. Presupunând că se poate găsi materialul adecvat şi folosind o logică relativ simplă a vecinilor, subunităţile se pot asambla spontan în structuri complexe, se pot dezasambla dinamic, se pot multiplica sau rearanja în configuraţii succesive. Freeman Dyson (1979), Schneiker (1986) şi alţii au luat în considerare utilitatea profundă a unor astfel de replicatori robotici ipotetici în utilizări şi dimensiuni variind de la explorarea spaţiului cosmic la mobilierul de uz casnic şi la „maşinile lui Hibb” la scară nanometrică sau nanodoctori. Dyson (1979) a prevăzut autoreplicatori care, după ce ar fi fost lansaţi de pe Pământ către un asteroid sau o planetă, ar fi putut să îşi extragă propriile materii prime şi să formeze relaţii simbiotice cu alte forme de „viaţă”. Shoulders (1961) a extins conceptul de replicatori la scara nanometrică, unde existenţa lor ar putea avea o gamă largă de aplicaţii ştiinţifice şi medicale.

Punerea în aplicare a replicatorilor utili în lumea reală se confruntă cu numeroase obstacole. Un grup de studiu al NASA (Bekey şi Naugle, 1980) a constatat că faimoasa dovadă a lui von Neumann făcea presupuneri majore şi evita probleme semnificative. Schneiker (1987) a sintetizat o abordare pentru simplificarea dezvoltării automatelor replicatoare prin minimizarea diferitelor tipuri de materiale/piese necesare, a numărului de factori dependenţi de scară, a toleranţei şi uzurii pieselor şi a complexităţii asamblării. O altă cerinţă este creşterea fiabilităţii (adică prin detectarea intrinsecă a erorilor, repararea, regenerarea). În prezent, aceste caracteristici sunt îndeplinite doar de simulări pe calculator sau de structuri pur biologice, cum ar fi proteinele citoscheletale şi virusii.

Schneiker (1986) notează că microreplicatorii simpli, augmentaţi cu STM/FM-uri, ar putea produce în masă produse de nanotehnologie în cantităţi practic nelimitate. Nanotehnologia aplicată noilor materiale superconductoare (şi invers) ar putea ajuta la implementarea micro-automatiilor replicative utile, care, la rândul lor, ar putea produce nanodevice-uri în cantităţi vaste. Până de curând, superconductivitatea a fost considerată limitată la temperaturi apropiate de zero absolut, cu toate acestea, unele materiale au demonstrat tranziţii superconductoare la temperaturi mult mai ridicate, uşor de obţinut (Robinson, 1987).

Creşterea dramatică a temperaturilor de tranziţie superconductoare în anumite materiale şi disponibilitatea curentului fără pierderi, a magneţilor şi a motoarelor pot anunţa un val de progrese ştiinţifice, tehnologice şi economice. Schneiker susţine că printre acestea se vor număra facilitarea tehnologiei STM (tunelare superconductoare), joncţiuni Josephson, senzori de câmp magnetic, precum şi replicatori superconductoare. Materialele superconductoare oferă beneficii de scalare, simplitate a designului, necesităţi reduse de energie şi densitate ridicată a componentelor. Magneţii şi bobinele superconductoare ar putea forma „adeziv” sau „cleme” comutabile pentru a menţine subansamblele, a genera modele de câmp magnetic comutabile, a direcţiona asamblarea, poziţionarea şi funcţiile dinamice, a acţiona motoare rotative/liniare sau a forma canale sau ghidaje superconductoare pentru transportul materialelor (Schneiker, 1987). Inteligenţa colectivă care apare în automatele replicatoare paralele a fost studiată de Christopher Langton (1986) de la Laboratoarele Naţionale Los Alamos. Langton este organizatorul unei conferinţe Los Alamos despre „Viaţa Artificială”, studiul sistemelor informatice care prezintă comportamente caracteristice vieţii naturale. Explorând modele de automate celulare şi autoreplicatori, Langton (1987) speră să „extragă logica moleculară a sistemelor vii”.

Langton (1987) afirmă:

> *Tehnologia microelectronică şi ingineria genetică ne vor oferi în curând capacitatea de a crea noi forme de viaţă* ***in silico****, precum şi* ***in vitro****. Această capacitate va pune omenirea în faţa celor mai profunde provocări tehnice, teoretice şi etice cu care s-a confruntat vreodată.*

# 11. Viitorul Conștiinței

Nanotehnologia ar putea permite materializarea visului fuziunii Minte/Tehnologie. În sfârșit, dezbaterile despre natura conștiinței se vor muta din domeniul filosofiei în cel al experimentelor la scară largă. Viziunile conștiinței interfațându-se cu, sau existând în cadrul, calculatoarelor sau roboților pilotați mental, exprimate de Moravec, Margulis, Sagan și Max Headroom ar putea fi realizate. Asociația simbiotică a nanodispozitivelor implicative și a rețelelor citoscheletice în interiorul celulelor vii ar putea nu numai să contracareze procesele bolilor, ci și să conducă la schimbul de informații codificate în modelele dinamice colective ale stărilor subunităților citoscheletice. Dacă acestea sunt într-adevăr rădăcinile conștiinței, o descifrare și transfer de conținut mental, ca în *science fiction*, ar putea deveni posibile. Un scenariu posibil ar putea utiliza o mică fereastră într-o regiune specifică a creierului. Lobul temporal hipocampal, un loc unde intră amintirile și unde radiația electromagnetică din afara craniului pătrunde cel mai ușor și fără daune, este o posibilă zonă unde informațiile distribuite în întregul creier ar putea fi accesate și manipulate. Tehnici precum interferometria laser, sonde electroacustice scanate peste suprafețele creierului sau nanosonde replicative imunotargetate către tubulinele hipocampale cheie, MAP-uri și alte componente citoscheletice ar putea fi dezvoltate pentru a percepe și transmite conținutul conștiinței.

Ce dispozitiv tehnologic ar fi capabil să primească și să găzduiască informațiile emanate de aproximativ $10^{15}$ subunități de tubulină care își schimbă starea de aproximativ $10^{9}$ ori pe secundă? O posibilitate este o matrice personalizată de automate la scară nanometrică, care ar putea utiliza materiale superconductoare. O altă posibilitate este o matrice modificată genetic de aproximativ $10^{15}$ subunități de tubulină (sau mult mai multe) asamblate în matrice de tensegritate paralele de microtubuli interconectați și alte structuri cito-scheletice. Capacitățile actuale și viitoare apropiate de inginerie genetică ar trebui să permită izolarea genelor responsabile pentru proteinele cito-scheletice cerebrale ale unui individ specific și reconstituirea într-un mediu adecvat. Astfel, cele două surse evidente de conținut mental (ereditatea și experiența) pot fi în cele din urmă reunite într-un mediu de conștiință artificială. O matrice cito-scheletică polimerizată ar fi extrem de instabilă și dependentă de întreținerea biochimică, hormonală și farmacologică a mediului său. Monitorizarea și controlul precis al mediilor de conștiință cito-scheletică pot deveni o nouă ramură importantă a anesteziei. Polimerizarea rețelelor cito-scheletice fără celule ar fi limitată ca dimensiune (și potențialul intelectual) din cauza colapsului gravitațional. Remedii posibile ar putea include hibridizarea matricei cito-scheletice prin depunere metalică, simbioză cu nanoreplicatorii sintetici sau plasarea matricei cito-scheletice într-un mediu cu gravitație zero. Poate că viitoarele bolți de conștiință vor fi construite în stații spațiale orbitale sau sateliți. Persoanele cu boli terminale pot alege să-și depună mintea într-un astfel de loc, unde conștiința lor poate exista pe termen nelimitat și (datorită rezonanței cooperative îmbunătățite) într-o magnitudine mult mai mare. Poate că multe minți se pot amesteca într-o singură matrice mare, eliminând singurătatea, dar ridicând noi probleme sociopolitice. Divertismentul, comunicarea cu pământul și starea de spirit biochimică și întreținerea pot fi furnizate de robotică, conducând poate la următoarea simbioză - călători spațiali robotici (formați ca centrioli?) a căror inteligență este derivată din conștiința cito-scheletică.

Da, aceasta este *science fiction*. Va deveni realitate, așa cum au devenit multe alte SF-uri anterioare? Probabil că nu exact așa cum se sugerează; dar dacă evenimentele din trecut sunt indicatori valabili, viitorul conștiinței poate fi și mai scandalos.

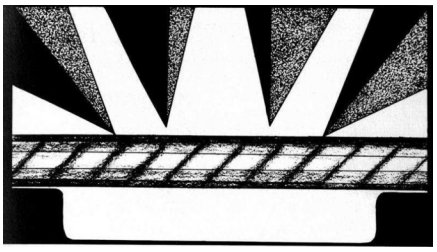

*Fig.11.1: Vârf STM multiplu care sondează microtubulul. De Paul Jablonka (Schneiker și Hameroff, 1987).*

**TRADUCERE REALIZATĂ CU:**